

METSÄBIOMASSASTA HEALTH-BIO-SOVELLUTUKSIA PK-SEKTORILLE

Jukka-Pekka Parjanen, Mirja Andersson, Leena Uotila

Projektin toteutusaika: 14–18/2009



Tiivistelmä

Selvitys on osana Uusiutuva metsäteollisuus -osaamisklusterin metsäkemikaalit ja uudet tuotteet metsästä osakokonaisuutta ja hankevalmisteluja. Työn tavoitteena on tarkastella Suomen metsäbiomassaa ja metsä- sekä elintarviketeollisuuden sivuvirtoja mahdollisten uusien ja/tai korvaavien tuotesovellusten löytämiseksi mm. kemian- ja elintarviketeollisuuden käyttöön. Selvityksen pääpaino oli marjojen ja marjoihin liittyvien hankeaihioiden eteenpäin vieminen kokoamalla yhteen Suomessa ja ulkomailla tehdyistä tieteellisistä julkaisuista ja selvityksistä tietoa Uusiutuva metsäteollisuus -osaamiskeskusklusterin sekä Kokkolan seudun osaamiskeskuksen käyttöön.

Sekä potentiaaliselta käytöltään kuin terveysvaikutuksiltaan marjoissa on huomattavasti potentiaalia. Marjasadot ovat Suomessa etenkin metsämarjojen osalta merkittävät ja suuri osa vuotuisesta sadosta jää metsiin johtuen jatkuvasta poimijapulasta sekä keruun hankaluus tietyillä metsäalueilla. Lisäksi joidenkin viljeltyjen marjojen kuten esimerkiksi mustaherukan sadosta voi jäädä jopa puolet keräämättä ja kyseisen marjan kuten joidenkin muidenkin viljelypinta-ala on vähentynyt viime vuosina. Toisaalta taas esimerkiksi tyrnin viljely on jatkuvasti lisääntynyt. Mikäli metsämarjojen keruuta ei voida tai ihmisistä riippuen haluta lisätä niin kaikkia Suomen marjoja jopa lakkoja voidaan viljellä ja niiden viljelystä on tutkimustietoa olemassa. Lisäksi keruuta voisi mahdollisesti pyrkiä koneistamaan, mutta koneistamiseen liittyy useita ongelmia niin keruuympäristön puolesta kuin puhtasvalmisteiden ja elintarvikkeiden näkökulmasta. Lisäksi marjojen poiminta on verovapaata tuloa tällä hetkellä, mikä myös estää koneistamista.

Marjat omaavat sekä merkittäviä todistettuja terveysvaikutuksia, että huomattavaa potentiaalia eri yhteyksissä aina verisuotaudeista diabetekseen *in vitro*- sekä eläintutkimusten perusteella. Valitettavasti ihmisillä suoritettuja tutkimuksia on eri marjoilla joko huomattavan vähän tai ei ollenkaan. Tutkituimmat marjat ovat mustikka, tyrni sekä mustaherukka, joiden lisäksi karpaloa on tutkittu todella paljon virtsatieinfektioiden yhteydessä. Lakalla ja puolukalla on huomattavaa näyttöä niin syövän kuin eri suolistobakteerien nujertajana *in vitro*. Marja-aronialla sekä ruusunmarjallakin on näyttöä erilaisista ominaisuuksista terveyteen ja hyvinvointiin. Marjavalmisteita voidaan käyttää myös kosmetiikkaan C-vitamiini- sekä antioksidanttilähteinä ja marjoista tyrni nopeuttaa ihohaavojen paranemista sekä parantaa ihon uusimista. Kosmetiikkaan ja luontaistuotteisiin käytetään maailmalla (Italia ja Ranska) Suomesta tuotua mustikkaa, josta tehdään antosyaanivalmisteita juuri näihin tarkoituksiin.

Täten jalostaminen arvokkaammiksi tuotteiksi olisi kannattavaa ja todistamattominakin voidaan sanoa marjojen hyödyn olevan merkittävä siltä pohjalta, että väestöryhmissä joissa on suuri marjojen kulutus, tavataan huomattavasti vähemmän astmaa, diabetesta, reumaa ja muita kroonisia sairauksia. Kyseisillä väestöryhmillä on myös muita vähemmän iän aiheuttamia rappeumia sekä sairauksia. Marjojen yhdisteiden pitoisuudet kuitenkin jäävät EU:n määrittämästä pitoisuusrajasta elintarvikkeiden merkintää varten, minkä johdosta yhdisteisiin liittyen ei voida käyttää ravitsemusväitteitä. Marjojen terveysvaikutuksiin liittyen olisi jatkon kannalta suoritettava tutkimuksia ihmisillä, jotta voidaan seuloa ihmisillä toimivat vaikutukset ja mahdollisesti löytää vastaavat aktiiviset fenoliyhdisteet jalostusta varten. Lisäksi marja-aroniaa, lakkaa, puolukkaa sekä ruusunmarjaa pitäisi tutkia yleisesti enemmän ja erityisesti selvittää tarkemmin lakalla, puolukalla ja marja-aronialla havaittuja vaikutuksia diabetekseen ja syöpään.

Marjojen jalostaminen on Suomessa mahdollista, koska tekniikat sekä prosessit ovat tunnettuja ja on olemassa erinäisiä valmiita simulointityökaluja tehdassuunnittelua silmälläpitäen. Jalostus vaatii kokeelliset tutkimukset sekä simuloinnin niin optimoimisen kuin prosessisuunnittelunkin kannalta ja olennaiset osat fenolisten uutteen valmistuksessa ovat marjan pektiinien entsyymikäsittely, uutto, suodatus, adsorptioerotus ja tuotteen kuivaus. Näistä vaiheista kriittisin on adsorptioerotus, jonka kohdalla on huomioitava parametreja tuottavuuteen, kapasiteettiin, eluenteihin ja adsorptio-materiaaliin liittyen. Valmistusmenetelmät ovat käytettävissä niin elintarvike-, lääke-, kuin kosmetiikkateollisuuden tuotannossa. Lisäksi olemassa olevan analytiikan toistettavuus ja selvyys pitäisi varmistaa käyttöönotettaessa.

Pettua voidaan Suomessa saada tällä hetkellä 15 000 kg/vuosi koulutettujen petsurien toimesta ja on todistettu kliinisillä kokeilla petun yhdisteiden alentavan koehenkilöiden verenpainetta sekä kohentavan

yleistä terveyden tilaa. Pettujauhojen valmistukseen on olemassa toimiva RCM-prosessi ja toimijoina alalla on sekä Finnpettu-, että Pesiökylän osuuskunnat, joiden lisäksi osin pettuun liittyvää toimintaa järjestävät muutamat luontomatkailuyritykset. Lisäksi luontoyrittäjyys-verkostosta voi tiedustella yhteistyökumppaneita ja lisätietoja. Petun käytön kannattavuus riippuu siitä miten paljon ja minkälaista pettua saadaan kerättyä sekä siitä miten tuote markkinoidaan ja ottaako kuluttaja tuotteen omakseen. Kannattavuuslaskelmia ei ole vielä tehty, koska ei ole varmuutta onko kiinnostusta teolliseen valmistukseen ja täten kannattavuus pitäisi laskea prosessille vai onko kiinnostus vain pettujauhojen hankintaan, jolloin kannattavuus pitäisi määrittää eri jauhoille ja leiville. Keski-Euroopassa sekä joissakin osissa pohjoismaita ja Venäjää petun kysynnän ennustetaan kasvavan. Jatkossa voisi suorittaa petulle käyttö- ja investointikustannuslaskelmat ja arvioida mahdolliset kuluttajahinnat sekä tutkia tuotteiden markkinoita ja markkinointia tarkemmin.

Sisällysluettelo

1. Johdanto	2
2. Marjat ja marjojen sivuvirrat.....	2
2.1 Ravitseukselliset koostumukset	8
2.2 Fenoliset yhdisteet ja niiden mahdolliset terveystvaikutukset.....	11
2.2.1 Mustikka.....	14
2.2.2 Karpalo	17
2.2.3 Puolukka.....	19
2.2.4 Tyrni.....	20
2.2.5 Lakka.....	22
2.2.6 Mustaherukka	23
2.2.7 Variksenmarja	25
2.2.8 Marja-aronia	26
2.2.9 Ruusunmarja.....	27
2.3 Liikalihavuuden ja diabeteksen hoito/ehkäisy.....	27
2.4 Fenoliyhdisteiden jalostus ja analytiikka	29
2.4.1 Jalostus	29
2.4.2 Analytiikka	40
2.5 Kannattavuus, saatavuus ja tuotesovellukset.....	43
3 Pettu	46
3.1 Petun kannattavuus, saatavuus ja käytettävyys.....	47
4 Yhteenveto	49
5 Jatkoimenpiteitä.....	49
6 Viitteet	53

1. Johdanto

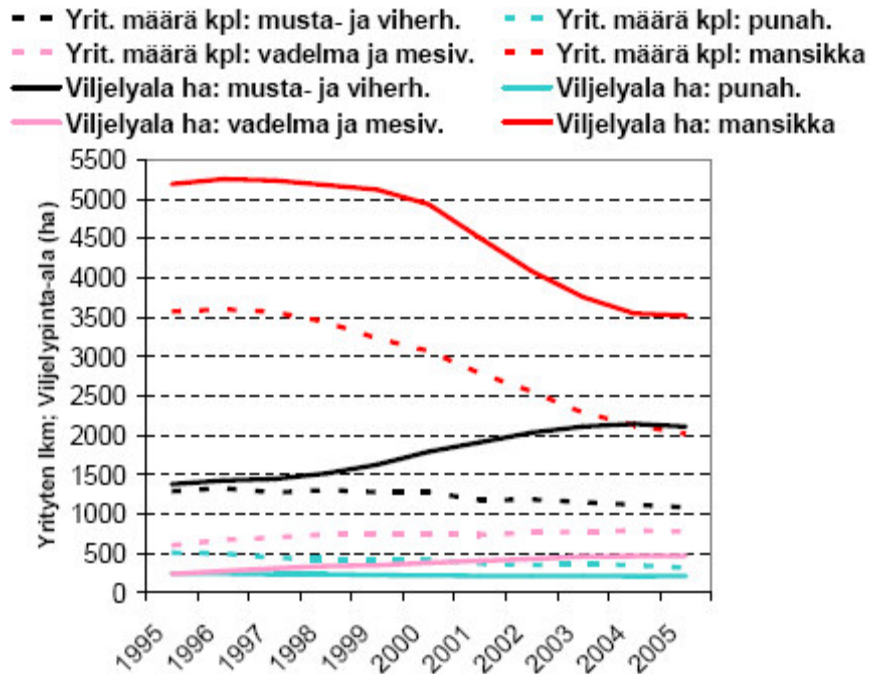
Nykyisen metsäteollisuuden murroksessa, erinäisten terveydellisten ongelmien lisääntyessä ja samanaikaisesti terveellisten elintapojen vallatessa alaa tiettyjen ryhmien keskuudessa on hyvä tilaisuus investoida uuteen liiketoimintaan. Terveydellisiä ongelmia ovat esimerkiksi tyypin 2 diabetes ja sydän- ja verisuonitaudit lihavuuden lisääntyessä sekä iän mukanaan tuomat rappeutumat kansan ikääntyessä, että työelämän muuttuessa yhä enemmän istumiseksi näyttöpäätteen edessä. Näin ollen erityisen kiinnostavia vaihtoehtoja ovat erinäiset metsäbiomassoilla tai niistä saatavilla yhdisteillä muokatut funktionaaliset elintarvikkeet, luontaistuotevalmisteet ja kemikaalit.

Työ on osana Uusiutuva metsäteollisuus -osaamisklusterin metsäkemikaalit ja uudet tuotteet metsästä osakokonaisuutta ja hankevalmistelua. Työn tavoitteena on tarkastella Suomen metsäbiomassaa ja metsä- sekä elintarviketeollisuuden sivuvirtoja mahdollisten uusien ja/tai korvaavien tuotesovellusten löytämiseksi mm. kemian- ja elintarviketeollisuuden käyttöön. Työn pääpaino on marjojen ja marjoihin liittyvien hankeaihioiden eteenpäin vieminen kokoamalla yhteen Suomessa ja ulkomailla tehdyistä tieteellisistä julkaisuista ja selvityksistä tietoa Uusiutuva metsäteollisuus -osaamiskeskuskusterin sekä Kokkolan seudun osaamiskeskuksen käyttöön. Työn lopulliset hyötyjät olisivat tässä yhteydessä elintarvike- (AROMTEC, VALIORAVINTO, NORBIOX, Kiantama Oy, FAZER leipomot, FOODWEST) ja mahdollisesti luontaistuote- sekä kosmetiikkateollisuus (LUMENE, NORDIC BIOCOSMETICS, AROMTEC, DETRIA) [1,2].

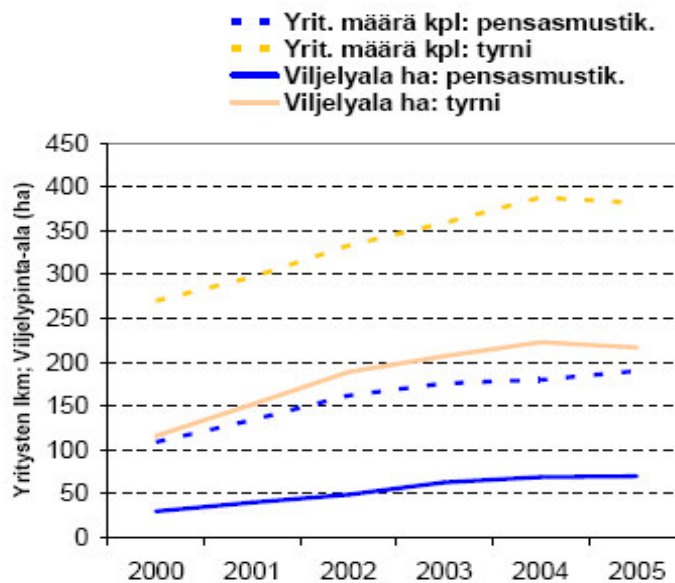
2. Marjat ja marjojen sivuvirrat

Suomen pääasialliset marjavirrat ovat mansikka, vadelma, mustikka, puolukka, karpalo, mustaherukka, lakka ja tyrni. Variksenmarjaa, ruusunmarjaa ja marja-aroniaa käyttävät pääasiassa kotitaloudet omiin tarpeisiinsa ja tällöinkin vain vähän, vaikka kyseiset marjat vaikuttaisivat yksiltä parhaimmista suojaravintoaineiden lähteistä. Itse marjavirrat tulevat teollisuuden käyttöön ulkomaisilta tuottajilta, koska paikallinen tarjonta ei pysty nykyisellään vastaamaan kysyntään [2]. Metsissä kasvaa arviolta 500–1000 miljoonaa kiloa metsämarjoja, joista hyödynnetään keskimäärin 1-10 % (Lakalla 25 % [3]) marjasta riippuen ja hyödynnetyistä määrästä vain murto-osa jatkojalostetaan teollisuudessa. [2]. Metsissä kasvaneiden marjojen lisäksi mansikkaa, mustaherukkaa ja puutarhavadelmaa viljellään runsaasti, ja tyrniä, punaherukkaa sekä pensasmustikkaa jonkin verran [4,5]. Näistä marjoista mansikan viljelyn pinta-ala ja viljely-yritysten määrä on vähentynyt vuosittain huomattavasti toisinkuin tyrnillä, vadelmalla ja pensasmustikalla, joiden viljely etenkin tyrnin osalta on kasvattanut kiinnostustaan [5].

Kuvissa 1 ja 2 on esitettyä musta- ja viherherukkaa, punaherukkaa, mansikkaa, vadelmaa ja mesivadelmaa, tyrniä sekä pensasmustikkaa viljelevien tilojen lukumäärät ja viljelypinta-alat vuosien 1995–2005 välisenä aikana.



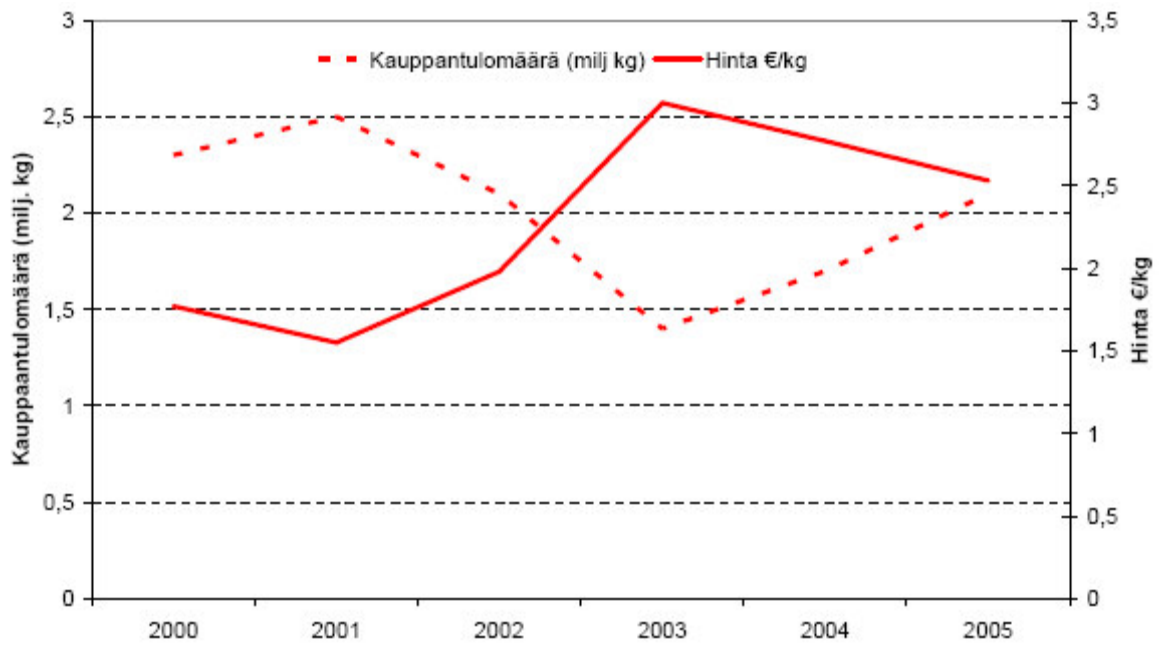
Kuva 1. Musta- ja viherherukkaa, punaherukkaa, mansikkaa, vadelmaa ja mesivadelmaa viljelevien tilojen lukumäärät ja viljelypinta-alat vuosina 1995–2005 [5].



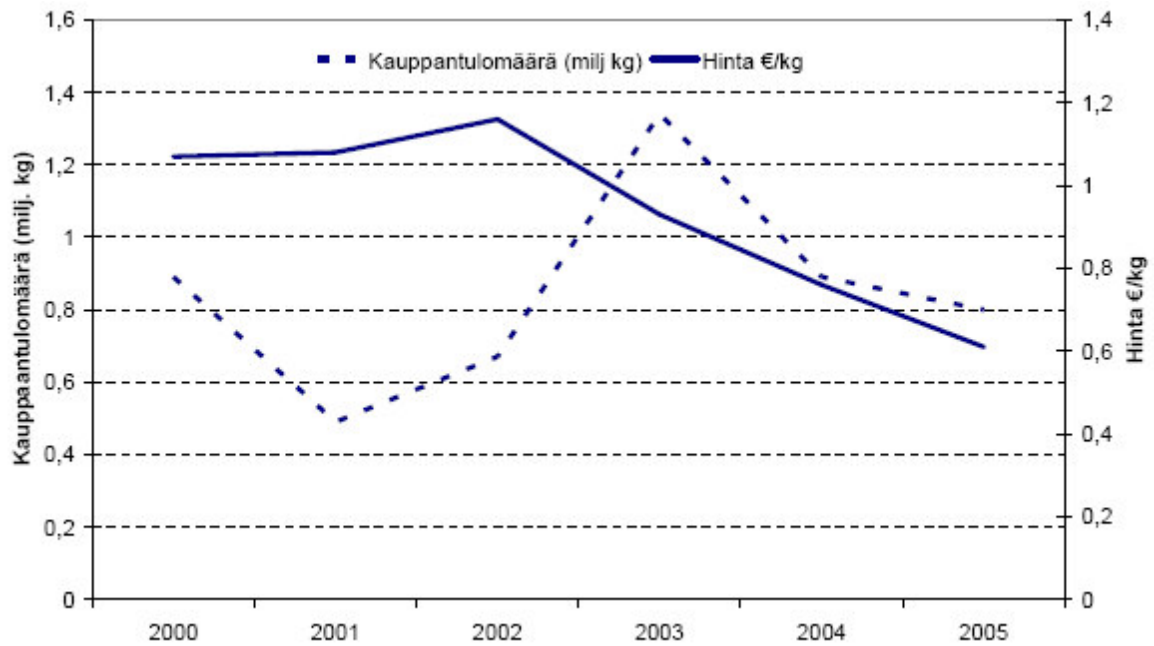
Kuva 2. Tyrniä sekä pensasmustikkaa viljelevien tilojen lukumäärät ja viljelypinta-alat vuosina 2000–2005 [5].

Viljellyistä marjoista arviolta 85 % puutarhamarjatuotannosta suuntautuu tuoremarkkinoille. Tuotannosta osa joka ei suuntauudu tuoremarkkinoille menee yleensä pienten jatkojalostajien käyttöön ja on useimmiten jalostajien itse viljelemiä (sopimusviljely). Sopimusviljelyn osuus on noin 15 % puutarhamarjatuotannosta ja suurin osa tästä on mustaherukkaa. Koska puutarhamarjojen tuotanto suuntautuu tuoremarkkinoille, tuo teollisuus omat raaka-aineensa kuivattuna ja jäädytettynä ulkomailta. Tärkeimmät puutarhamarjojen tuontimaat olivat vuonna 2006 Puola, Espanja, Kiina ja Chile [2,6]. Metsämarjoista tuoremustikkaa tuodaan Ruotsista ja tuorepuolukkaa sekä muita metsämarjoja (lakka, karpalo jne.) Venäjältä [2,6]. Teollisuuden kokonaistuontimäärä oli vuonna 2006 19,7 milj. kg, josta arviolta 13 milj. kg oli jäädytettyjä marjoja. Tuonnista metsämarjojen osuus olisi helposti korvattavissa kotimaisilla marjoilla, mikäli poimijapulaa ei olisi, suurempi osuus metsämarjoista saataisiin teollisuuden käyttöön ja kotimainen markkinahinta olisi kilpailukykyinen ulkomaantuonnin kanssa (kotimainen arvonlisävero 17 %, ulkomainen 6–7 %). Marjojen vienti Suomesta on vähäistä ja marjatuotteiden vientiä ei ole juuri lainkaan, koska vienti on lähes täysin pelkkiä kuivattuja tai jäädytettyjä marjoja. Vienti koostuu mustikasta 4,1 milj. kg ja muista metsämarjoista (puolukka, lakka, karpalo ym.) 4,3 milj. kg. Tärkeimmäksi vientimaaksi on noussut Kiina ja muita ovat Italia, Ruotsi, Japani ja Saksa [2,4,5].

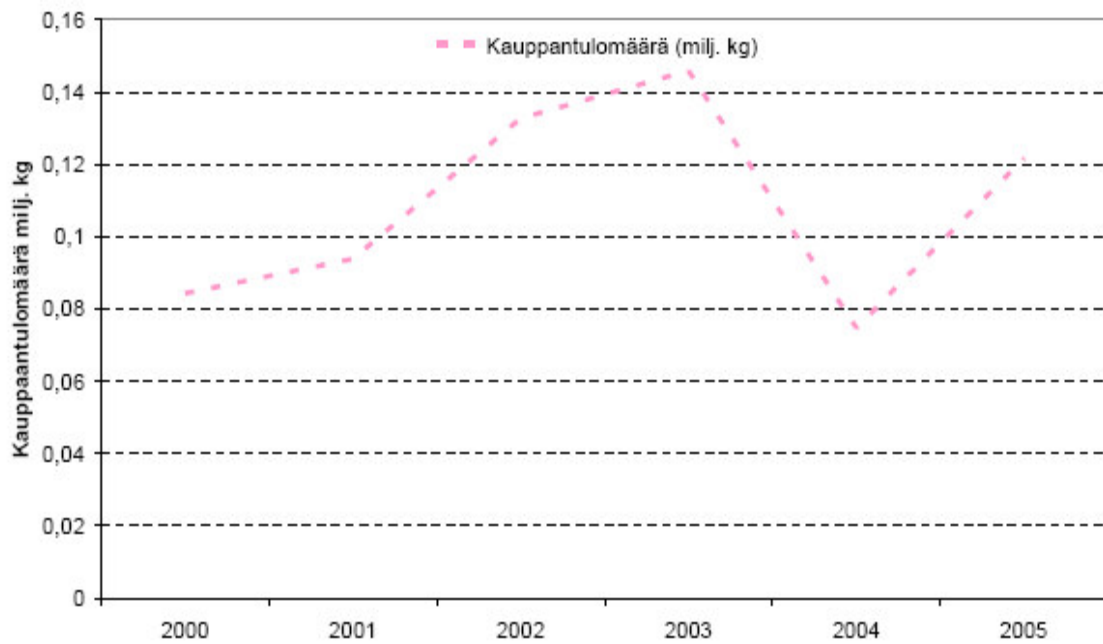
Kuvissa 3–8 on esitettyä mansikan, mustaherukan, puutarhavadelman, puolukan, mustikan ja lakan keskimääräiset kauppantulomäärät ja kilohinnat vuosina 2000–2005. Keskimääräiset kilohinnat olivat Marsi-selvityksen mukaan seuraavat: Mansikka 2,8 €/kg, Mustaherukka 0,8 €/kg, Puutarhavadelma 5,2 €/kg, Puolukka 0,9 €/kg, Mustikka 1,3 €/kg (puhdas 2,5 €/kg) ja Lakka 7,8 €/kg. Tyrnin ja variksenmarjan kilohinnat olivat 6,2 €/kg ja 0,7 €/kg vastaavasti [2,5,9].



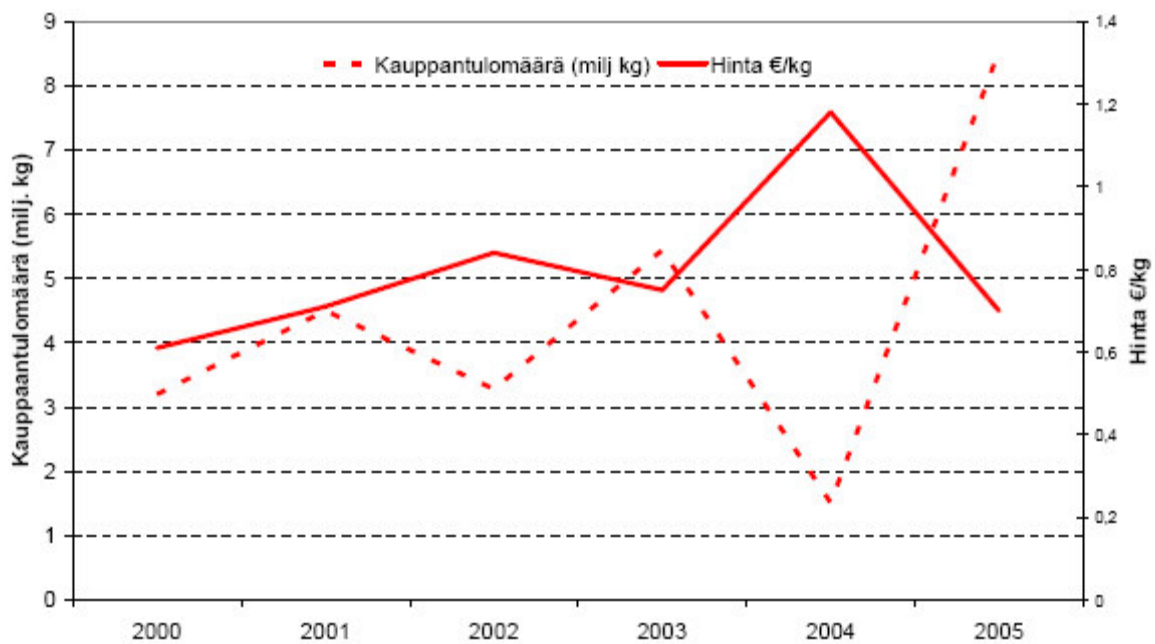
Kuva 3. Mansikan keskimääräiset kauppantulomäärät ja kilohinta vuosina 2000–2005 [4].



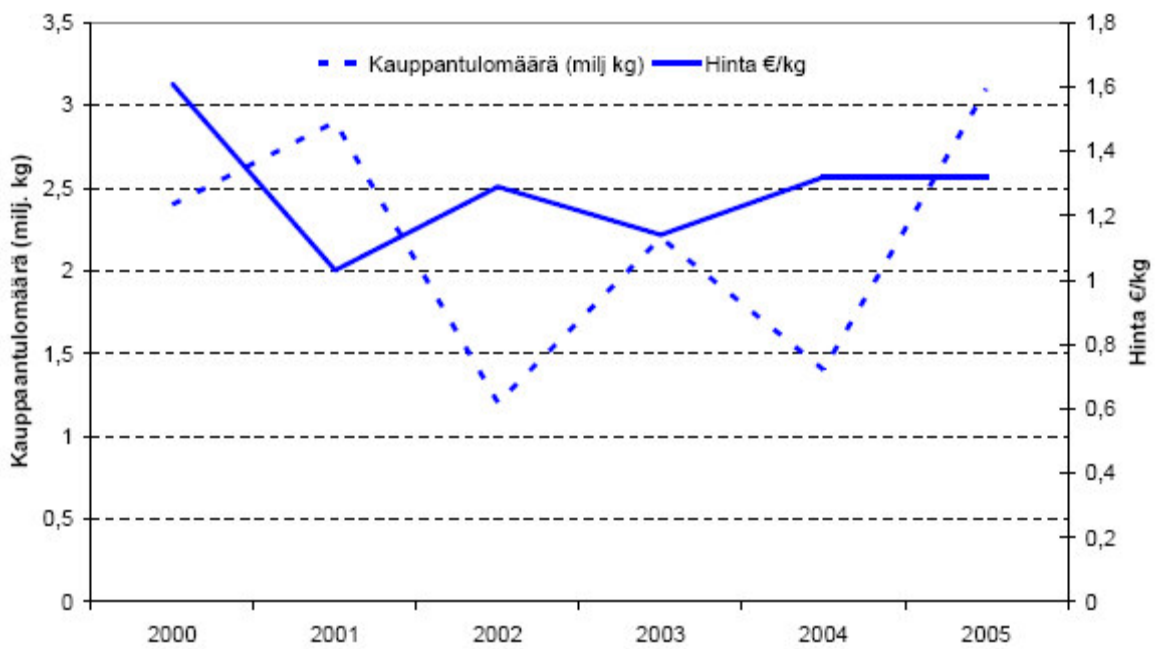
Kuva 4. Mustaherukan keskimääräiset kauppantulomäärät ja kilohinta vuosina 2000–2005 [4].



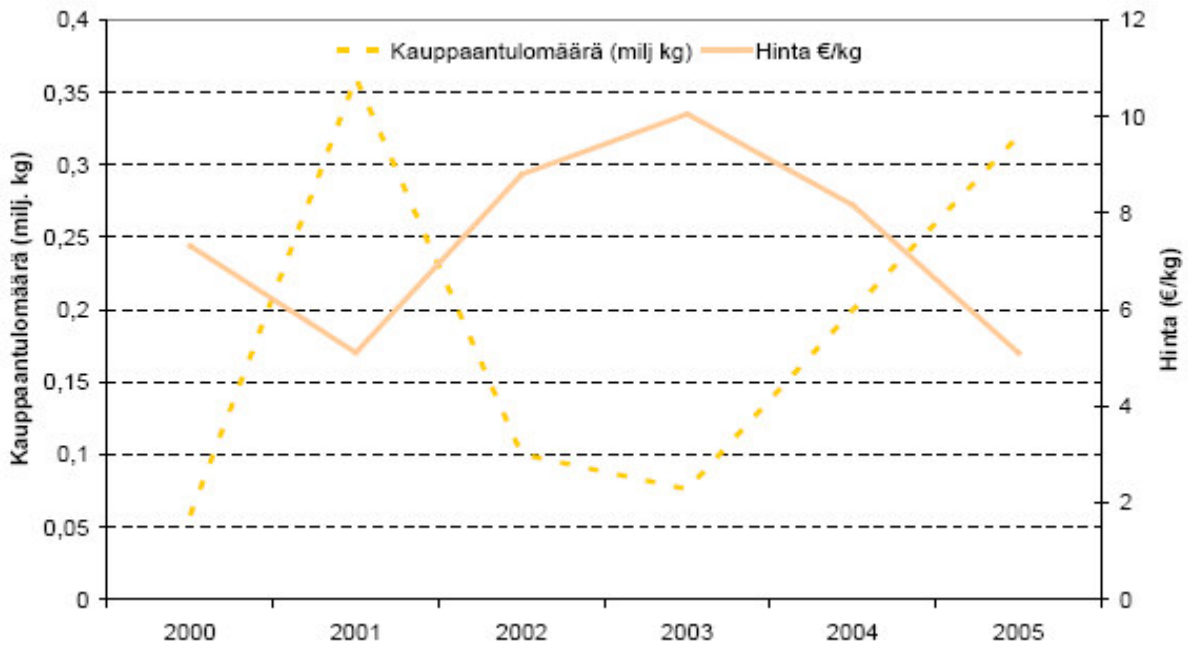
Kuva 5. Puutarhavadelman keskimääräiset kauppantulomäärät ja kilohinta vuosina 2000–2005 [4].



Kuva 6. Puolukan keskimääräiset kauppantulomäärät ja kilohinta vuosina 2000–2005 [4].



Kuva 7. Mustikan keskimääräiset kauppantulomäärät ja kilohinta vuosina 2000–2005 [4].



Kuva 8. Lakan keskimääräiset kauppantulomäärät ja kilohinta vuosina 2000–2005 [4].

Kuvista nähdään kilohintojen olevan hyvin riippuvaisia kauppantulomääristä muilla paitsi mustaherukalla, mikä johtuu halvan ulkomaisen mustaherukan tuonnin kasvusta. Kauppantulomäärät ovat puolestaan suoraan riippuvaisia marjasadoista sekä metsämarjojen kohdalla poimijoiden määrästä. Nykyisin puutarhamarjoista mansikan vuotuinen marjasato on noin 9 milj. kg, mustaherukalla 2,3 milj. kg ja puutarhavadelmalla 0,5 milj. kg. Metsämarjoista puolukan keskimääräinen marjasato on noin 190 milj. kg, mustikan 150–250 milj. kg, lakan 25–30 milj. kg ja

variksenmarjan 250 milj. kg [2,5,10]. Marja-aroniasta tai ruusunmarjasta kokonaissatoarvioita ei ole saatavilla, koska nämä marjat ovat vähemmän käytössä ja silloinkin ne ovat harvemmin tulleet myyntiin. Tilanne on kuitenkin muuttumassa, esimerkiksi ruusunmarjan viljely on lisääntynyt Pohjois-Pohjanmaalla, jossa viljelyä tehdään jo 30 hehtaarilla Finfoodin tietojen mukaan. Samoin kuin ruusunmarjasta jalostettuja tuotteita kuten soseita ja mehuja on jo kaupoissa. Marja-aroniatuotteita ei ole vielä saatavilla kaupoissa, mutta kiinnostus kasvaa kun fenolisten yhdisteiden terveysvaikutuksista ja mahdollisuuksista tulee lisää tietoa. Sadot voidaan molemmilla marjoilla olettaa hyviksi, kun marja-aronialla satoisuus on suunnilleen 8 kg/pensas ja ruusunmarjalla sato on ollut Ruotsissa viljeltynä 5000–6000 kg/ha.

Sivuvirtoina marjojen käytöstä saadaan mehutuotannon puristemassat n. 20–30 % raaka-aineesta, jotka koostuvat marjojen kuorista, siemenistä ja muista kiintoaineista, lajittelutähteinä 2–10 % ja roskina 1–5 % marjojen keräyksessä ja poiminnassa mukaan tulleita marjapensaiden lehtiä, varren kappaleita ym [7]. Lehtien, varren ja oksien kappaleita saadaan sivuvirtoina, koska raaka-aineiden, eli marjojen, kauppahinta on merkittävästi kalliimpi puhdistetuissa kuin puhdistamattomissa marjoissa. Esimerkiksi mustikan kilohinta roskaisena on 1,3 €/kg kun se on puhdistettuna 2,5 €/kg [2]. Näitä sivuvirtoja voidaan jatkojalostaa tuotteiksi kuten öljyiksi, fenoliuutteiksi, kuitufraktioiksi ja marjajauheiksi. Näistä ainoastaan marjojen siemenöljyjen jalostusta tapahtuu Suomessa hieman suuremmassa mittakaavassa muiden tuotannon ollessa hyvin vähäistä. Uutteiden käyttäjiä ovat esimerkiksi sekä elintarvike-, että kosmetiikkateollisuus flavonoidien vaikutusten vuoksi ja kuitufraktio ja marjajauheet ovat lisättävissä elintarvikkeisiin tarpeen mukaan. Maailmalla uutteiden valmistusta suositaan mustikasta ja mustaherukasta niiden korkeiden antosyaanipitoisuuksien takia, jolloin uutteiden *in vitro*-tutkimusten perusteella oletetaan vaikuttavan parantavasti ja tehostavasti terveyteen ja ulkonäköön [2,5,7].

2.1 Ravitsemukselliset koostumukset

Marjojen ravitsemukselliset koostumukset tunnetaan keskimäärin hyvin ja ne löytyvät kansallisesta Fineli-koostumustietokannasta, johon on koottu Suomessa käytössä olevien elintarvikkeiden keskimääräisiä ravintosisältöjä sekä fenoliyhdisteiden koostumuksia. Ravintosisällöltään marjat ovat erittäin hyviä kuidun lähteitä ja sisältävät monipuolisesti vitamiineja ja kivennäisaineita sekä samanaikaisesti vähän rasvaa ja proteiineja. Täten marjojen energiavakioitutiheys, eli ravintoaineita suhteessa energiamäärään, on huomattavan korkea, mutta ravintosisällöstä huolimatta ne eivät ylitä EU-lainsäädännön asettamaa ravitsemusväitteen rajaa. Tästä huolimatta marjat ovat osoittautuneet vähintäänkin hedelmien veroisiksi, ellei paremmiksi, suojaravintoaineiden lähteiksi [2,4,5].

Ravitsemusväitteitä, joita voidaan liittää tältä pohjalta marjoihin yleisesti, ovat: vähärasvainen, runsaskuituinen, vähäenerginen, ei tyydyttynyttä rasvaa ja vähän natriumia sisältävä. Näistä vähärasvaista tai vähäenergistä ei voida käyttää yhdessä tyrnin kanssa, koska se sisältää rasvahappoja, lisäksi luontainen C, E ja/tai foolihapon lähde tai sisältää runsaasti C, E tai foolihappoa-käsitteitä voidaan liittää osaan marjoista.

Taulukossa I on esitettyä Mustikan, puolukan, karpalon, tyrnin, lakan ja mustaherukan ravintosisältö verrattuna perinteisiin hedelmiin sekä tomaattiin ja vuorokautisiin saantisuosituksiin.

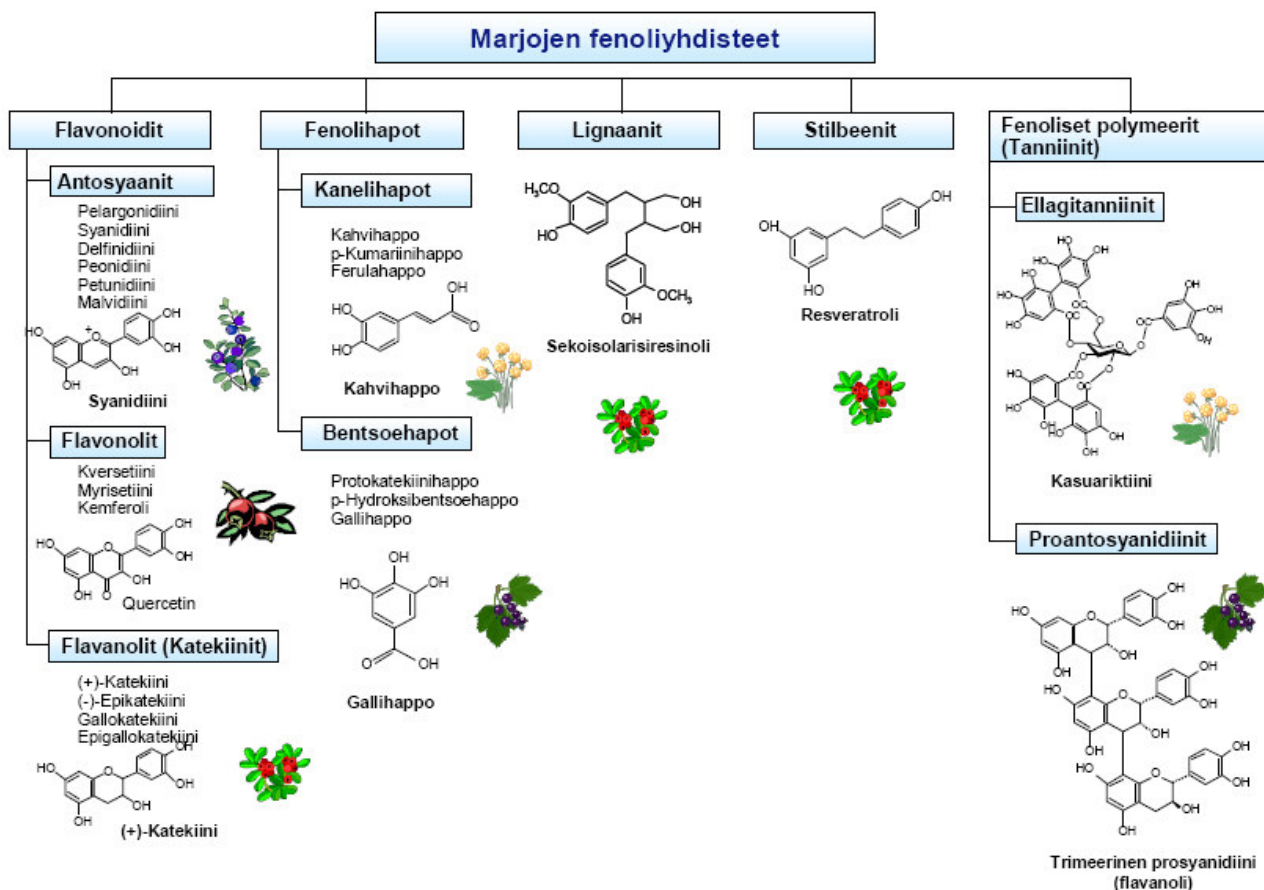
Taulukko I. Mustikan, puolukan, karpalon, tyrnin, lakan ja mustaherukan ravintosisältö verrattuna perinteisiin hedelmiin sekä tomaattiin sekä vuorokautisiin saantisuosituksiin, että vuorokautisen saannin vertailuarvoon. a:valtion ravitsemusneuvottelukunta(2005), b:ravintoaine voidaan ilmoittaa pakkausmerkinnöissä, mikäli 100 g tuotetta sisältää vähintään tämän määrän vitamiinia tai kivennäisaineita, c: vähimmäistarve n-6-rasvahappoa 2000 kcal energiatasolla, d: vähimmäistarve n-3-rasvahappoa 2000 kcal energiatasolla, [10].

	Mustikka	Puolukka	Karpalo	Tyrni	Lakka	Mustaherukka	Omena	Appelsiini	Banaani	Tomaatti	Saanti- suositus 31-60 v M ^a	Saanti- suositus 31-60 v N ^a	Vuorokautisen saannin vertailuarvo (15%) ^b
Energia, kcal	33,0	22,0	34,0	79,0	42,0	48,0	41,0	43,0	84,0	20,0			-
Hiilihydraatit, g	6,4	3,5	6,8	6,3	7,8	7,8	9,4	8,9	18,3	3,5			-
Rasva, g	0,6	0,7	0,5	5,0	0,5	0,4	0,1	0,3	0,4	0,3			-
Linoliyhappo, mg ^c	123,0	125,0	125,0	250,0	84,0	45,0	24,0	32,0	26,0	83,0	5600,0	5600,0	-
Alfa-linoleenihappo, mg ^d	117,0	143,0	143,0	90,0	75,0	27,0	5,0	28,0	20,0	7,0	1100,0	1100,0	-
Proteiini, g	0,5	0,4	0,4	0,7	1,4	1,1	0,2	0,6	1,1	0,6			-
Kuitu, g	3,3	3,3	2,6	6,0	6,3	5,8	1,8	2,1	1,8	1,4	25,0	25,0	-
Kuitu, veteen liukenematon, g	2,6	2,8	2,1	5,1	5,8	3,0	1,1	1,2	1,0	0,2			-
Kalium, mg	110,0	25,0	80,0	133,0	170,0	340,0	120,0	150,0	360,0	290,0	3500,0	3100,0	-
Magnesium, mg	9,0	8,0	9,0	30,0	29,0	24,0	4,0	13,0	33,0	11,0	350,0	280,0	300 (45)
Rauta, mg	0,6	0,7	0,4	0,4	0,7	1,2	0,1	0,2	0,4	0,3	9,0	15,0	14 (2,1)
Sinkki, mg	0,2	0,2	0,2	0,0	0,6	0,3	0,1	0,1	0,2	0,2	9,0	7,0	15 (2,3)
A-vitamiini, RE	3,9	1,8	0,8	2,6	14,4	8,2	3,7	7,4	1,7	66,8	900,0	700,0	800 (120)
E-vitamiini, mg	1,9	0,9	1,5	3,0	3,0	2,2	0,2	0,4	0,2	0,7	10,0	8,0	10 (1,5)
C-vitamiini, mg	15,0	20,0	7,5	165,0	100,0	120,0	4,0	51,0	10,0	14,0	75,0	75,0	60 (9)
Foolihappo, mg	11,5	2,0	2,0	10,0	30,0	7,7	2,9	26,5	12,5	11,6	300,0	300,0	200 (30)

2.2 Fenoliset yhdisteet ja niiden mahdolliset terveysvaikutukset

Fenolisten yhdisteiden pääryhmät ovat flavonoidit, fenolihapot, lignaanit, stilbeenit ja tanniinit (fenoliset polymeerit). Flavoinoideista tärkeimpiä ovat antosyaanit, flavonolit, falvonit, flavanonit ja katekiinit.

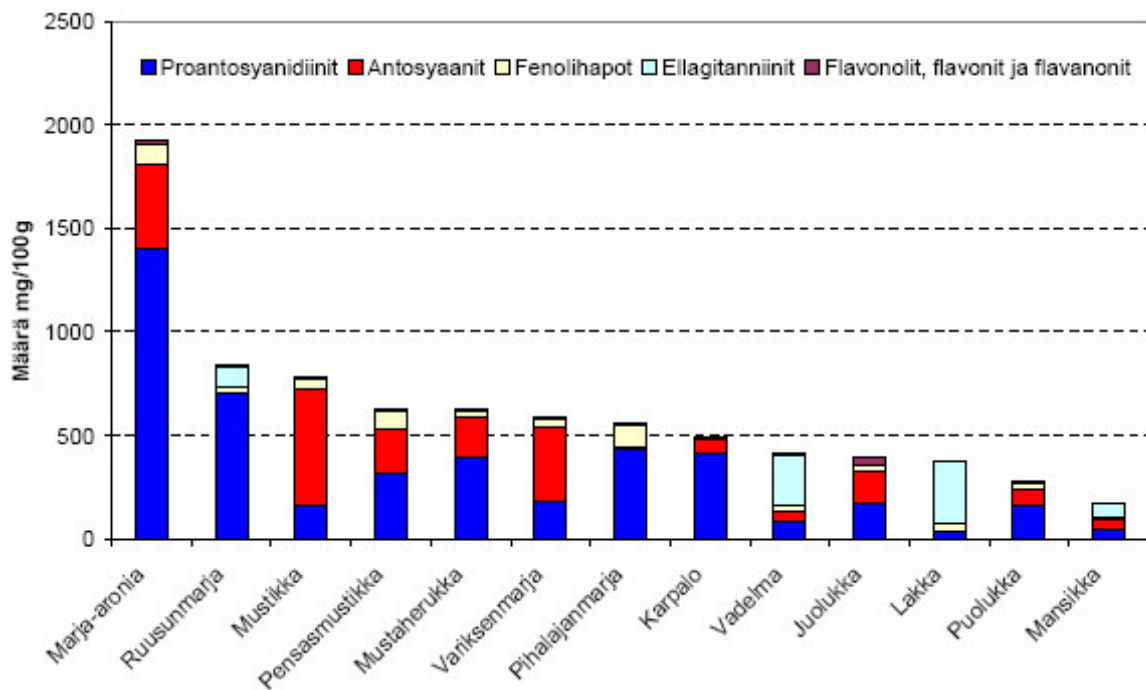
Kuvassa 9 on jaoteltu tärkeimmät marjojen fenoliyhdisteet ja esitetty esimerkkejä saantilähteistä.



Kuva 9. Marjojen fenolisten yhdisteiden jaottelu ryhmiin [11].

Erilaisille marjoille ja marjoista saataville fenolisille yhdisteille on meneillään huomattavan paljon *in vitro* tutkimuksia, mutta kliinisistä kokeista on vielä vähän näyttöä. Lisäksi tutkimustieto on osin puutteellista ja ristiriitaista, mutta saadut tulokset ovat hyvin lupaavia monissa eri sovelluksissa kasvaimista silmien terveyteen ja verisuoniston sekä ihosolukon kuntoon. Positiivisia vaikutuksia on havaittu jopa tyypin 2 diabetekseen, muistin toimintaan, nopeampaan päätösten tekoon, lihasjäykkyyteen, likinäköisyyteen, virusten toimintaan, virtsatieinfektioon jne. Ovaskaisen et. al. [12] tutkimuksissa analysoitiin 143 suomalaisen ruoka-aineen fenoliyhdisteiden pitoisuudet arvioitaessa suomalaisten päivittäin nauttimaan fenoliyhdisteiden määrää. Samalla työryhmän

tulokset lisättiin kansalliseen Fineli-koostumustietokantaan, josta analyysitulokset ovat löydettävissä sitä mukaan kuin ne julkaistaan. Ruoka-aineista 20 parhaimman fenolihydriidien lähteistä 16 oli erilaisia marjoja, joiden lisäksi joukkoon kuului kaakaojauhe, ruis- ja vehnäleseet, maapähkinä sekä tumma suklaa [12]. Kuvassa 10 on esitetty 13:n Suomessa kasvavan marjan fenolisten yhdisteiden pitoisuudet [11,12,13,14,15].



Kuva 10. Erilaisten marjojen fenolisten yhdisteiden pitoisuudet [11].

Tärkeässä roolissa terveysvaikutusten aikaansaamiseksi on fenolihydriidien aineenvaihdunta ihmiskehossa, yhdisteiden kulkeutuminen kehossa vereen sekä veren mukana kudoksiin. Aineenvaihdunta alkaa mahalaukussa, jossa antotsyaanit pystyvät imeytymään sellaisinaan verenkiertoon ja vähän flavonoidien glykosideja pilkkoutuu sekä imeytyy. Pääasiallinen pilkkoutuminen flavonoidien glykosideille tapahtuu ohutsuolessa, jossa imeytyminen tapahtuu useimmiten ilman glykosidien sokeriosaa [16, 17].

Ohutsuolessa hajottamattomia ja tai muuten imeytymättömiä fenolihydriidit hajottavat paksusuolen bakteerit, jotka vastaavat lähes kokonaan proantotsyanidiinien [16] ja muiden tanniinien hajottamisesta. Nämä yhdisteet eivät imeydy sellaisenaan vaan di- ja trimeereinä, mutta tällöinkin vain vähän. Manach et. al.[17] sekä Prior ja Wu [2006] ovat eläinkokeissaan havainneet, että antotsyaanit ja proantotsyaanit voivat vaikuttaa terveyteen imeytymättä suolistossa. Tällöin vaikutukset tulevat ilmi suolistobakteerikannan muutosten ja hajottamistuotteiden kautta.

Kversetiinin glykosidit, isoflavonit, gallihappo, katekiinit ja flavanonit imeytyvät parhaiten, mutta on olemassa epäily, että proantosyanidiinit ja antosyaanit, joiden on tähän mennessä osoitettu imeytyvän heikosti, hajoavat nopeasti epästabiileiksi aineenvaihduntatuotteiksi ja täten niitä ei ole erotettu verenkierrosta muuten kuin vähäisessä määrin ellei testaus ole tehty miltei välittömästi nauttimisen jälkeen [12].

Lisäksi on huomioitava, että fenoliyhdisteet sitoutuvat halukkaasti proteiinien, metallien ja hiilihydraattien kanssa ja syntynyt kompleksi saattaa imeytyä hyvin heikosti suolistosta verenkiertoon. Täten lisätynä elintarvikkeisiin, joissa on luonnostaan fenoliyhdisteitä hyvin vähän voivat nämä kompleksi vaikuttaa niin elintarvikkeen ruoansulatukseen ja sen ravinteiden aineenvaihduntaan suolistossa mahdollisesti heikentäen sitä [18]. Marjapensaiden ja –puiden lehdissä on suuria määriä procyanidiineja, kversetiiniä sekä p-kumaari-, kaffeini- ja feruulihappoja [18]. Näiden lähteenä lehdet ovat huomattavan hyviä, mutta on huomioitava, että eläinkokeissa on havaittu lehdistä tuotetun fenoliyhdisteitten aiheuttaneen myrkytyksiä käytettäessä pitkiä aikoja tai suurina annoksina. Näin ollen sen turvallisuus on varmistettava ennen kuin siitä voidaan valmistaa polyfenolivalmisteita tai muita jalosteita [12].

Nykyisen tiedon mukaan aineenvaihdunnan jälkeen yhdisteet eivät kerry elimistöön vaan poistuvat täysmääräisesti virtsan ja ulosteen mukana. Virtsan kautta poistuvat lähinnä flavanonit, isoflavanonit ja flavan-3-olit, joiden lisäksi muita yhdisteitä on selvästi vähemmän. Aineenvaihduntareitti maksasta ulosteeseen on pääasiallinen poistumistie kaikille fenoliyhdisteille [16]. Oletettavaa on, että mikäli poistuminen tapahtuu täydellisesti, on fenoliyhdisteitä nautittava päivittäin terveysvaikutusten aikaansaamiseksi ja ylläpitämiseksi [18]

Taulukossa II on esitetty erikasvikunnan tuotteiden antioksidanttipitoisuuksia, jotka on mitannut FRAP-menetelmällä Halvorsen et. al. [19].

Taulukko II. Antioksidanttipitoisuus (mmol/100 g) kasvikunnan tuotteissa [19].

Vihannekset	Marjat	Hedelmät	Viljatuotteet	Juurekset					
Chilipippuri	2,46	Ruusunmarja	39,46	Granaattomena	11,33	Ohrajauho	0,58-1,09	Inkivääri	3,76
Lehtikaali	2,34	Variksenmarja	9,17	Viinirypäle	1,45	Kaurajauho	0,32-0,59	Punajuuri	1,98
Punakaali	1,88	Mustikka	8,23	Appelsiini	1,14	Ruisjauho	0,23-0,47	Peruna	0,09
Persilja	1,7	Mustaherukka	7,35	Luumu	1,06	Vehnäjauho	0,13-0,33	Porkkana	0,04
Paprika	1,64	Ahomansikka	6,88	Ananas	1,04				
Ruusukaali	1,14	Puolukka	5,03	Kiivi	0,91				
Pinaatti	0,98	Vadelma, villi	3,97	Klementiini	0,90				

Sipuli	0,67	Pensasmustikka	3,64	Greippi	0,83
Parsakaali	0,58	Vadelma	3,06	Omena	0,29
Purjosipuli	0,47	Lakka	2,83	Banaani	0,20
Salaatti	0,34	Pihlajanmarja	2,42	Päärynä	0,18
Tomaatti	0,31	Mansikka	2,17	Vesimeloni	0,04
Kukkakaali	0,23	Punaherukka	1,78		
Valkosipuli	0,21	Karviainen	1,45	Saksanpähkinä	20,97
Kaali	0,09				
Kurkku	0,05				

Seuraavissa luvuissa 2.2.1–2.2.9 eritellään yhdeksän eri marjan ja marjojen fenolisten yhdisteiden terveysvaikutuksista olemassa olevaa tieteellistä näyttöä mahdollisia uusia tuotesovelluksia ajatellen.

2.2.1 Mustikka

Mustikkaa on tutkittu kaikista metsämarjoista eniten ja sen ominaisuuksia tutkitaan jatkossakin paljon johtuen huomattavasta määrästä mahdollisuuksia, joita tämä marja tarjoaa. Hämmästyttävää suuressa tutkimusmäärässä on kuitenkin se, että ei ole esitetty täysin luotettavia kliinisiä tutkimuksia. Lisäksi monissa vanhemmissa tutkimuksissa, joita on tehty, vaikuttaisi olevan jonkin verran puolueellista tulkintaa, mikä lisää epäluotettavuutta ja mahdollistaa suuremman määrän ristiriitaisuuksia [12].

Mustikan antiadhesiivisuutta, eli sen kykyä estää bakteerien tarttuminen isäntä organismin kudoksiin ja soluihin, tutkittu vain *in vitro* ja näissä malleissa on osoitettu villin pensasmustikan vähän A-tyyppin sidoksia sisältäneiden suurikokoisten proantosyanidiinifraktioiden estävän *Escherichia coli*-bakteerin kiinnittymistä [12,21] sekä lisäksi mustikasta ja mustikkamehutiivisteestä suurimolekyylisten fraktioiden estävän meningo- sekä pneumokokkibakteerien kiinnittymistä nenä-nielualueelle. Lisää tutkimustietoa on odotettavissa Kuopion yliopiston BerryMilk-hankkeesta, jota johtaa Carina Tikkanen-Kaukanen (email: Kaarina.Tikkanen@uku.fi, puh. 040 355 2925). Valitettavasti antiadhesiivisuudesta ei ole vielä kliinisiä kokeita, jolloin voitaisiin todentaa varmasti edellä esitetyt vaikutukset. [12]

Antosyaanien vaikutusta tulehdustekijöihin on tutkittu jonkin verran *in vitro*, mutta enimmäkseen muista lähteistä kuin marjoista. Tämä on valitettavaa, koska mustikka on todella hyvä antosyaanien lähde, sillä siinä on antosyaaneja enemmän kuin missään muussa marjassa. Ongelmana on se, että antosyaanit voivat olla erilaisia ja toimia eri tavalla eri lähteissä. Yksi lupaava eläintutkimus on

tehty mustikan antosyaaneilla. Tutkimuksessa kaneille ja rotille annettiin mustikan antosyaaneja 200–400 mg suun kautta ja 25–100 mg laskimon sisäisesti. Tällöin havaittiin turvotuksen vähenevän sekä kapillaariverisuonten vahvistuvan molemmilla annostustavoilla [22]. Lisäksi pensasmustikkauutteella tehdyssä eläintutkimuksessa on havaittu tulehdusta ehkäisevä vaikutus rotilla [23]. Anti-inflammatorisista vaikutuksista ei ole kliinistä näyttöä, mutta väestöllisesti on havaittu, että runsaasti fenoliyhdisteitä nauttivilla ryhmillä on vähemmän kroonisia tulehdussairauksia. Mustikan ja pensasmustikan osuutta tässä ei ole selvitetty [12].

Mustikan antimikrobisia vaikutuksia ruoansulatuskanavan mikrobeihin on tutkittu VTT:llä *in vitro*, jolloin on havaittu mustikkauutteen estävän muiden haitallisten kantojen paitsi *Listeria*- ja *Campylobacter jejuni*-bakteerien sekä *Candida albicans*-hiivan kasvua haittaamatta hyödyllisten bakteerikantojen kasvua [24,25,26,27]. Lisäksi mustikkauutteen on todettu estävän helikobakteerin kasvua ja yhdessä antibiootihoidon kanssa helikobakteerin häätöä voidaan tehostaa [27]. VTT:ssä on käynnissä berrydrug-hanke, jonka tavoitteena on tutkia kliinisesti vaikutuksia suolistobakteereihin [12]. Yhteyshenkilönä toimii projektipäällikkö ja erikoistutkija Riitta Puupponen-Pimiä (puh 020 722 4457, email: riitta.puupponen-pimia@vtt.fi).

Eläintutkimuksissa ja yhdessä kliinisessä kokeessa on havaittu mustikan ja musta-aronian antosyaanien suojaavan mahalaukun ja suolikanavan limakalvoja vaurioilta syötettäessä eläimille syanidiini-3-O-beta-glukosidia [12] sisältävää valmistetta 2 g/1 kg ruumiinpainoa ja ihmisille 600 mg antosyaanivalmistetta [28] kaksi kertaa päivässä. Ihmisillä suojaavan vaikutuksen oletetaan tulevan PGE2 (prostagladiini E2) pitoisuuden kasvusta [12].

Antioksidanttiteho on kiistatta osoitettu hyväksi useissa tutkimuksissa erilaisilla *in vitro* menetelmillä ja tällöin se on ollut mustikalla pensasmustikkaa parempi. Syönnin vaikutuksista on olemassa yksi kliininen koe, jossa henkilöt söivät myös puolukkaa ja mustaherukkaa 100 g päivässä kahdeksan viikkoa. Antioksidatiivinen vaikutus osoittautui pienemmäksi kuin *in vitro* olisi voinut olettaa. C-vitamiinipitoisuus kasvoi voimakkaasti, mutta vaikutus LDL:iin ja seerumin hapettumiseen jäi tilastollisesta merkitsevyydestä. Vaikutuksia havaittu muutaman tunnin sisällä syömisestä muutoin ei [12]. Antioksidanttipitoisuus on esitetty luvun 2.2 taulukossa II.

Lupaavaa näyttöä on pensasmustikasta muistihäiriöiden ja muiden ikääntymiseen liittyvien toimintahäiriöiden ehkäisyssä. Syynä tähän on se, että aivot ovat herkkiä oksidatiiviselle stressille, eli happiradikaalien aiheuttamille reaktiolle kudoksessa, ja tulehdusreaktioille. Antioksidantit

ehkäisevät näistä molempia tehokkaasti, joten ne myös edistävät aivojen terveyttä. Hyviä antioksidantteja ovat esimerkiksi antosyaanit sekä proantosyaanit, joita on mustikassa huomattava määrä. Tutkimuksissa antosyaaneja on löydetty aivoista tunti nauttimisen jälkeen [29] ja yhdisteitä on löydetty alueilta jotka ovat tärkeitä oppimisessa sekä muistamisessa [30]. Rotilla pensasmustikka on parantanut sekä muistia, että motorisia toimintoja [31,32,33] ja ehkäissyt Alzheimeria [34,12].

Kliinisiä tutkimuksia on meneillään USA:ssa ikääntyvillä ihmisillä (<http://www.blueberrystudy.com/homepage/index.htm> ja kohta results), Blueberry Health Studyssa 2002 koehenkilöt söivät kupillisen pensasmustikkaa päivässä neljän viikon ajan, jonka jälkeen henkilöt raportoivat positiivisia muutoksia päätöksentekokyvyssä, energisyydessä, kivuissa, unen laadussa, mielialassa, rauhallisuudessa ja terveydentilassa. Lisäksi toisessa tutkimuksessa kahden vuoden ajan jatkettu mustikkakupillisen syönti päivässä paransi muistia henkilöillä, joiden muistin oli odotettu rappeutuvan [12].

Vaikka positiivisia tutkimustuloksia silmän näkökykyyn vaikutuksista on, niin vaaditaan huolellisesti toteutettuja kliinisiä kokeita, jotta voidaan todistaa varmasti. Aiemmat tulokset ovat osin ristiriitaisia ja mahdollisesti puolueellisia. On kuitenkin osoitettu että 25 % mustikkauute (20 mg uutetta = 4,5 mg antosyaaneja/painokilo) esti harmaakaihin tai silmänpohjan rappeutuman synnyn rotilla kun kontrolliryhmästä 70 %:lle syntyi molemmat [35]. Mustikan antosyaanien vaikutusta on tutkittu diabeettisen retinopation hoidossa annoksilla 320–480 mg/päivä. Tässä tutkimuksessa on havaittu parannuksia verisuonituksessa ja silmänpohjassa [36]. Mustikan ja antioksidanttien yhdistelmällä (180 mg antosyaaneja/päivä + 200 mg E-vitamiinia 4kk:n ajan) on myös pysäytetty harmaakaihin eteneminen lähes koko testiryhmällä (96 %) [37]]. Mustikan antosyaaneja 200 mg kerta-annoksia syöneillä on todettu myös parantava vaikutus viherkaihiin [38]. Näin ollen vaikka luotettavia ja kattavia kliinisiä tutkimuksia tarvitaan lisää, on syytä huomioda, että mustikalla on lähes varmoja positiivisia vaikutuksia silmän terveyteen ja rappeutumien estoon. Kaiken lisäksi vastaavilla antosyaaneilla (mustaherukka on todettu silmien väsymistä estävä vaikutus näyttöpäätetyöskentelyssä [39]. (Hämäränäkö, diabeettinen retinoplastia ja yleinen silmänterveys) [12].

Tutkimustieto viittaa siihen, että mustikka ja sen antosyaanit vaikuttavat monella tavalla verisuoniston terveyteen: vahvistavat hiussuonten seinämiä ja vähentävät niiden läpäisevyyttä eläimissä (diabeetoksen vaurioita) [40], relaksoivat ja laajentavat verisuonia *in vitro* [41], koska lisäävät typpioksidin muodostumista endoteelissa, suojaavat endoteeliä oksidatiiviselta stressiltä ja

inflammaatiolta *in vitro* [42] sekä vähentävät trombosyyttien aggregaatiota [Myrtocyan valmiste 480 mg/päivä (vastaa n. 20 g mustikkaa) -> vähemmän veritulppia]. Ongelmana trombosyyttien aggregaation vähenemisessä voi olla se, että tällöin verenvuoto saattaa kestää tavallista pidempää [43]. Tämä on otettava huomioon verenvuotopotilailla. Kliininen näyttö on vanhaa ja epäluotettavaa. Uudempi näyttö muilla tummilla marjoilla [12].

2.2.2 Karpalo

Karpalon anti-inflammatorisista vaikutuksista on saatu lupaavaa näyttöä *In vitro*-tutkimuksissa, joissa on havaittu pensaskarpalon antosyaanien ja hydroksikanelihappojen inhiboivan TNF-alfan sekä vetyperoksidin oksidatiivisen stressin vaikutusta [42] ja suurten polymeerifraktioiden inhiboivan tulehdussolujen sytokiinien tuotantoa [44]. Lisäksi karpalo nostaa veren ja virtsan salisylaattipitoisuutta voimakkaasti [45]. Salisylaatti on salisyylihapon, tulehduskipulääkkeen, esiaste. Valitettavasti tässäkin kliininen näyttö puuttuu [12].

Antimikrobisuudesta useita *in vitro* tutkimuksia. Karpalon on havaittu estävän *in vitro* muiden haitallisten kantojen paitsi *Campylobacter jejuni*-bakteerien sekä *Candida albicans*-hiivan kasvua haittaamatta hyödyllisten bakteerikantojen kasvua [24,25,26,27]. Lisäksi karpalouutteen on todettu estävän *in vitro* helikobakteerin kasvua ja yhdessä antibiootihoidon kanssa helikobakteerin häätöä voidaan tehostaa [27]. Yhdessä kliinisessä kokeessa viitteitä karpalomehun auttavasta vaikutuksesta helikobakteerin häätöön, kun mehua nautitaan 90 päivän ajan 250 mL kahdesti päivässä [46]. [12]

Antioksidanttiteho on osoitettu useissa *in vitro* kokeissa, joissa karpalouute esti LDL:n hapettumista, lisäsi sen imeytymistä sekä kolesterolin käyttöönottoa maksansoluissa [47]. Kliinisiä kokeita on tällä alueella muutamia. Yhdessä kokeessa koehenkilöt söivät kahdeksan viikon ajan päivittäin 1200 mg kuivattua karpalomehua sisältäviä kapsleita (n. 30 g karpaloa), jolloin proteiinien hapettumistuotteiden taso laski selvästi ja oli alhainen vielä kahdeksan kuukauden kuluttua kokeen loppumisesta. [48]. Toisessa kokeessa naisilla ei havaittu minkäänlaista antioksidatiivista vaikutusta [49] kun taas miehillä seerumin antioksidanttikapasiteetti kasvoi 6,5 % ja hapettuneen LDL:n pitoisuus laski 9,9 % juotaessa karpalomehua [50]. Naiset joivat mehua 0,75 L [49] ja miehillä annos oli 7 mL/kg ruumiinpanoa päivässä [50]. Naisten juodessa 0,5 L C-vitamiinointua karpalomehua oli vaikutus vastaava kuin edellisessä kokeessa miehillä [51]. Tällöin oletuksena oli C-vitamiinin aiheuttama antioksidanttiteho [12]. Antioksidanttipitoisuus on esitetty luvun 2.2 taulukossa II.

Antiadhesiiviset ominaisuudet ovat lisänneet kiinnostusta karpalotutkimukseen. *In vitro*-tutkimuksissa on saatu lupaavia tuloksia vaikutuksista suun bakteereihin. Kokeissa on todistettu pensaskarpalomehun haittaavan suun bakteerien kykyä muodostaa biofilmejä hampaiden pinoille [52,53] sekä hillitsevän hampaanjuurikalvon tulehdussolujen sytokiinien tuotantoa [44]. Sellaisenaan marja ei optimaalinen johtuen sen happamuudesta ja karpalomehujen sokereista, mutta karpalon sisältämät aineet (suurimolekyyliset) hyvinkin mahdollisia suun terveyden edistäjiä [12].

Karpalon ja karpalomehutiivisteiden suurimolekyylisten fraktioiden on todettu estävän *In vitro* monien nenä-nielun alueen patogeenien adheesiota (pneumo- ja meningokokki) [12]. Kliinisissä kokeissa pensaskarpalomehulla ei ollut vaikutusta lasten hengitystie- tai muiden infektioiden määrään [12,54].

Karpalosta on vahva tieteellinen näyttö olemassa virtsatieinfektion torjuna etenkin naisilla. Karpalon vaikutuksesta virtsa estää *E.coli*-bakteeria kiinnittymästä virtsaputken epiteelisoluihin *in vitro*. Tämän vaikutuksen mekanismeja ei tarkkaan tiedetä tai sitä mitkä karpalon yhdisteet ovat tässä aktiivisia. Vaikutuksen mekanismeja tutkitaan intensiivisesti ja on osoitettu sekä karpalomehun [55], että karpalosta eristettyjen ainesosien [56] estävän *E.colia*. Uusimpia tutkimusten perusteella vaikutuksen oletetaan liittyvän karpalon A-tyypin proantosyanidiineihin, joiden on osoitettu *in vitro* estävän *E.colin* adheesiota [57,58]. Suurin osa kokeista on suoritettu Amerikan pensaskarpalolla [12].

Väestötutkimuksissa jo vähäisellä karpalon, lakan, puolukan ja mansikan käytöllä on ollut yhteys vähentyneeseen virtsatieinfektioiden määrään [59]. Kliinisissä antiadhesiokokeissa 240 mL karpalomehua, josta mitattiin 83 mg pitoisuus osittain A-tyypin proantosyanidiineja, päivässä nosti voimakkaasti virtsan antiadhesiivisuustaipumusta *E.colille*. Vastaavaa vaikutusta ei ollut runsaalla B-tyypin proantosyanidiinien annostuksella [58]. Lisäksi on havaittu, että vaikutus pätee myös antibiooteille vastustuskykyisiin *E.coli*-kantoihin [60]. Antiadhesiivisuutta on tutkittu myös kliinisissä kokeissa kuivatuilla karpaloilla, jotka vaikuttivat samalla tavalla mutta eivät kaikilla [61]. Tutkittaessa eroa karpalomehun (3x2,5 dL/d) ja karpalotablettien välillä on havaittu vaikutuksen olevan yhtä voimakas ja merkittävästi parantavan tilannetta henkilöillä, jotka kärsivät jatkuvista virtsatien tulehduksista [62]. [12]

voida vetää johtopäätöksiä puolukan suhteen [12]. Antioksidanttipitoisuus on esitetty luvun 2.2 taulukossa II.

Misikangas et. al.[69] *in vitro*-tutkimuksessa on puolukalla havaittu olevan merkittävä vaikutus suoliston rauhaskasvaimien lukumäärään ja kokoon sekä pahanlaatuisiin kasvaimiin liittyviin yhdisteisiin β -kateniiniin ja syklin D1:een. Tutkimuksessa hiirille syötettiin korkean rasvapitoisuuden sisältävää ruokaa, josta 10 % oli pakastekuivattua mustikkaa, puolukkaa tai lakkaa. Lisäksi mukana oli vertaisryhmä, jolle syötettiin samaa korkean rasvapitoisuuden ruokaa, mutta ilman marjasisältöä. Marjojen syönnistä ei havaittu haittavaikutuksia ja kaikki marjat vähensivät merkittävästi rauhaskasvaimien muodostumista, mutta mustikka ei puolukan ja lakkan tavoin pienentänyt syntyneiden kasvaimien keskimääräistä kokoa. Puolukalla ja lakalla havaittiin myös vaikutusta β -kateniiniin ja syklin D1:n määrää suolistossa. Näistä vaikutus syklin D1:een oli merkittävä [13]. Tässä tutkimuksessa lakka oli tehokkain kasvainten rajoittaja, mutta erillisessä kokeessa on näytetty että kyseessä ei ole ellagiinihappo [70] vaan ilmeisesti synergiset vuorovaikutukset fenoliyhdisteiden välillä. Ajatus saa tukea siitä, että tutkimuksen kaikki marjat vähensivät kasvain taakkaa ja vaikuttivat kasvaimia pienentävästi. Lisäksi puolukka sekä lakka, jotka olivat tehokkaampia kuin mustikka, ovat polyfenolikoostumuksiltaan hyvin erilaisia [13]. Tämän synergian selvittäminen olisi ensiarvoisen tärkeää, koska mitä ilmeisimmin näillä marjoilla ja marjavalmisteilla voitaisiin torjua nykyisen rasvaisen ruoan aiheuttamien suolistosyöpien lisääntymistä.

2.2.4 Tyrni

Tyrnin käytöstä on hiirillä ja rotilla viitteitä, että pehmytosa- ja siemenöljyt lievittävät tulehdusreaktiota ja vähentävät kipua [71]. Tätä vaikutusta ei ole havaittu kaikissa koemalleissa, joten vaikutuksen varmistaminen olisi tärkeää. Suomessa suoritetussa kliinisessä kokeessa, Larmo et. al. [72], tyrnimarjalla oli lievä anti-inflammatorinen vaikutus eli CRP-arvo (tulehdusta mittaava arvo) aleni vähän. Kokeessa syötiin tyrnimarjoja kokonaisuudessaan siemenet mukaan lukien pyreenä n. 28 g/vuorokausi kolmen kuukauden ajan [14].

Vatsahaavan ehkäisyssä ja hoidossa tyrniöljyllä on saatu rohkaisevia tuloksia Kiinasta ja Venäjältä [73]. Xing et. al. [74] kokeilivat tyrnin siemenöljyn ja pehmytosaöljyn vaikutusta vastahaavan ehkäisyssä kun rotille syötettiin öljyjä 7 mL/kg/vuorokausi viikon ajan ja aiheuttamalla vatsahaava eri tavoin. Öljyjen vaikutuksesta vatsahaavaa syntyi vain 55 % rotista, jotka olivat öljyjä nauttineet, kun verrokkiryhmässä vastaava luku oli 100 % [74] [14].

Tyrnin antioksidatiivisuus on osoitettu *in vitro* ja eläinmalleissa. Esimerkiksi siementen vesiute on ollut tehokas antioksidantti liposomi- ja DPPH-malleissa [75]. Kokeissa ei kuitenkaan ole selitetty menetelmiä kunnolla. Vastaavasti kliinisissä kokeissa ei puolestaan ole havaittu antioksidatiivisia vaikutuksia [76, 77] [14]. Antioksidanttipitoisuus on esitetty luvun 2.2 taulukossa II.

Gupta et. al. [78] ovat osoittaneet tyrnin pehmytosan flavonoidien (pääasiassa flavonolien) ulkoisesti annettuna nopeuttaa haavojen paranemista rotilla. Kokeessa tehtiin rotille ihohaavoja, joihin lisättiin vaihtoehtoisesti tyrnin flavonoideja propyleeniglykolissa tai pelkkää propyleeniglykolia 20 µL kaksi kertaa päivässä viikon ajan. Flavonoidien vaikutuksesta haavat paranivat selvästi nopeammin, jolloin supistuminen ja epitelisaatio nopeutuivat sekä hydroksiproliinin ja heksosamiinin määrät lisääntyivät. Hydroksiproliini ja heksosamiini viittaavat kollageenin synteesin ja stabiloitumisen lisääntymiseen [78]. Pehmyt- ja siemenöljyä on tutkittu myös atoopikoilla [79]. Kokeessa oli kolme ryhmää, joista ensimmäinen nautti siemenöljyä toinen pehmytosaöljyä ja kolmas paraffiiniöljyä 5 g/vuorokausi neljän vuorokauden ajan. Atopian oireet vähenivät, mutta pehmytosaöljyllä oli sama vaikutus kuin paraffiiniöljyllä ja siemenöljyn vaikutus oli hieman lievempi. Yllättävää tässä kokeessa oli se, että paraffiiniöljyn vaikutus oli yhtä voimakas kuin tyrnin öljyjen. Atoppisen ihon karheuteen öljyillä ei ollut vaikutusta [79,78] [14].

Pehmytosan ja siementen öljyillä on havaittu lupaavia vaikutuksia krooniseen emätin tulehdukseen sekä Sjögrenin syndroomasta kärsivien limakalvo-oireiden lievennyksessä [73]. Kliinisessä kokeessa viisi potilasta nauttivat kolme tyrniöljykapselia kaksi kertaa päivässä, mikä vastaa noin 3 g öljyä päivässä, 12 viikon ajan. Kolme viidestä koki oireiden helpottuneen hoitajakson jälkeen. Sjögrenin syndroomassa kyynel-, sylki- ja muut rauhaset tuhoutuvat tulehduksen seurauksena hiljalleen. Kokeessa osalle 25 Sjögren-potilaasta annettiin 6 tyrniöljykapselia päivässä (3 g/vrk) kolmen kuukauden ajan. Vastaavasti toiselle osalle annettiin 6 kapselia lumeöljyä päivässä. Tyrniöljyvalmiste lievensi oireita tehokkaasti ja etenkin potilaat kokivat limakalvojen parantuneen merkittävästi [73]. Tyrniöljyistä on myös samalla apua suun kuivuuteen [14, 73].

Sydän- ja verisuonitautien ehkäisyssä ja hoidossa sekä mikroverenkierron kunnossapidossa on tyrniä tutkittu eläin- sekä kliinisissä kokeissa. Ulkoisesti annettuna tyrniöljyjen mikroverenkiertoa parantava vaikutus on osoitettu kahdessa eläinmalleissa, joissa toisessa oli kyseessä hiiren korvalehti ja toisessa rotan suolilieve. Korvassa hiusverisuonien määrä lisääntyi 17–41 %, pikkulaskimoiden läpimitta 11–25 % ja pikkualtimoiden läpimitta 55 %. Suoliliepeen kohdalla hiusverisuonitus lisääntyi 22–41 %, pikkulaskimoiden läpimitta 11–25 % ja pikkualtimoiden

läpimitta 25 % [81]. Intiassa siemenöljyllä on havaittu edullisia vaikutuksia LDL- ja HDL-kolesterolitasoihin [82]. Tällöin annoskoko on ollut suun kautta 1 mL öljyä 18 päivän ajan. Cheng et. al. [83] ovat tutkineet veritulpan muodostumista hiirillä tyrnistä eristetyyn flavonoidifraktion kanssa. Suonensisäisesti annosteltu flavonoidifraktio hidasti veritulpan muodostumista ja lisäksi sama flavonoidivalmiste vähensi verihiutaleiden aggregaatiota *in vitro* [83].

Olemassa olevissa kliinisissä kokeissa ei ole havaittu mahdollisia verenkiertoelimistön terveysvaikutuksia eläinlajikohtaisesti huolimatta. Viitettä, että tyrnin mehu ja pehmytosa nostavat veren HDL-pitoisuutta, mutta eivät vaikuta LDL:ään. Kiinassa saatu positiivisia tuloksia, mutta länsimaissa tehdyissä kliinisissä kokeissa ei selkeää kiistatonta näyttöä flavonoidien tai öljyjen vaikutuksista sydän- ja verisuonitautien riskitekijöihin [14].

2.2.5 Lakka

Antimikrobisesta vaikutuksesta vahva näyttö *in vitro*, jossa lakkauutteet estivät selektiivisesti ihmisen ruoansulatuskanavan haitallisten *Salmonella*-, *E.coli*-, *Staphylococcus aureus*-, *Staphylococcus epidermis*-, *Bacillus cereus*-, *Clostridium perfringens*-, *Campylobacter jejuni*- ja *helicobacter pylori*-bakteerien sekä *Candida albicans*-hiivan kasvua vaikuttamatta *Listeriaan* tai hyödyllisiin maitohappobakteereihin [24,25,26,27]. *S.aureus* oli erityisen altis lakan runsaalle ellagitanniinifraktiolle, joka oli ainoa syy *Candida albicans*:n ja *Campylobacter jejuni*:n kasvun vähydelle. Nämä ovat herkkiä vain runsaalle ellagitanniinimäärälle. Kliinisiä tutkimuksia on meneillään VTT:llä. (Lakka ja muut ellagitanniineja sisältävät marjat) [14].

Antioksidatiivisuudesta ei toistaiseksi näyttöä ihmisillä, mutta tutkimuksia lakan ja muiden ellagitanniinisten marjojen vaikutuksesta meneillään [14]. Banaanikärpäsmallissa Mylnikov et. al. [84] arvioivat tavallisen ja punaisen lakan mehun vaikutuksia rasvojen hapettumiseen. Punaisen antioksidanttikapasiteetti oli FRAP-menetelmällä yli kaksinkertainen tavallisen keltaisen lakan kapasiteettiin johtuen punaisen lakan merkittävästi suuremmasta antosyaanipitoisuudesta. Keltaisessa lakassa puolestaan on merkittävästi enemmän ellagitanniineja. Erikoista on se, että DPPH-menetelmällä ei havaittu eroa antioksidatiivisuudessa. Lakkamehut alensivat kärpäksillä lipidiperoksidaatiota, mutta keltaisella vain nuoret naaraat hyötyivät vaikutuksesta kun punaisella myös nuoret sekä vanhat koirat hyötyivät eduista [14,84]. Antioksidanttipitoisuus on esitetty luvun 2.2 taulukossa II.

Lakalla on osoitettu *in vitro* tutkimuksessa merkittävä vaikutus suoliston rauhaskasvaimien lukumäärään, kokoon ja vaikuttaviin yhdisteisiin β -kateniiniin ja syklin D1:een [13]. (kts. 2.2.3. puolukka, viimeinen kappale). Kliinistä tutkimusta ei ole aiheesta tehty eikä ole vielä täysin selvitetty mikä on vaikutuksen mekanismi, mutta lakan ellagiinihappo ei yksin vastaa vaikutuksesta [13].

2.2.6 Mustaherukka

Mustaherukasta antiadhesiivisuutta ja antimikrobisuutta on tutkittu vain *in vitro*. Näissä kokeissa mustaherukkauute esti *E.coli*-, *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus*- ja *helicobacter pylori*-bakteerien kasvua suolistossa. Muihin suolistopatogeeneihin se ei vaikuttanut ja vaikutus on jonkin verran heikompi lakkaan ja vadelmaan verrattuna (Lakka on paras) [24,25,26,27]. Kurokari-utteen (Villiä mustaherukkaa; antosyaaneja 640 mg/100 g) ovat Knox et. al. [85] havainneet viruksia torjuvia ominaisuuksia *in vitro*. Uute on esimerkiksi estänyt influenssa A- ja B-tyyppien kasvua ja vapautumista soluista. Syynä tähän ovat mustaherukan antosyaanit, joita sisältävissä fraktioissa oli antiviraalinen vaikutus [86]. Lisäksi kurokari-utteen on havaittu estävän herpesviruksen kiinnittymistä solukalvoille sekä inhiboimalla proteiinisynteesiä se heikensi viruksen jakautumista [14,87].

Mustikan ja mustaherukan antosyaaneja sisältävällä valmisteella (Medox) on saatu lupaavia tuloksia inflammatiota hillitsevästä vaikutuksesta. Vaikutukset plasman tulehdustekijöihin on toistaiseksi osoitettu vain yhdessä kliinisessä kokeessa [88], jossa kolmen viikon ajan henkilöt nauttivat medox-kapseleita päivittäin. Tämä määrä vastaa noin 300 mg/vrk antosyaaneja. Tuloksissa CRP ei muuttunut, mutta valmiste vähensi interleukiini 8 ja RANTES:n sekä INF α :n pitoisuuksia. Kaikki nämä vaikutukset kohdistuvat NF- κ B:hen, joka on inflammatorien geenien aktivaatioon sekä kemokiinien ja sytosiinien muodostuksen transkriptiotekijä [88]. Kliinisten kokeiden tulkintana on näin ollen, että antosyaanit saattavat vähentää NF- κ B aktivaatiota *in vivo* [14].

Siemenöljyn alustava kliininen näyttö osoittaa, että mustaherukan siemenöljyllä saattaisi voida parantaa ja ehkäistä nivelreuman oireita, tulehdustilaa sekä parantaa immuunivastetta. Leventhal et. al. [89] ja Soeken et. al. [90] ovat tutkineet siemenöljyn vaikutusta nivelreumapotilaisiin kliinisissä kokeissa sen jälkeen kun Watson et. al.[91] osoittivat siemenöljyn vähentävän aamujäykkyyttä sekä sytikiinien ja prostaglandiini-E2:n eritystä. Kliinisissä kokeissa nautittiin joko siemenöljyä tai lumeöljyä(soijaöljy) 10,5 g/vrk. Siemenöljyä nauttineilla oireet paranivat merkittävästi

lumeryhmään verrattuna. Pitkäaikaiskäytössä ongelmaksi saattaa muodostua öljyn määrä, joka on noin 15 kapselia päivässä [14,89,90].

Antioksidatiivisuus on osoitettu mustaherukalle *in vitro*. Halvorsenin et. al.[19] tutkimuksissa mustaherukka sijoittui marjoista neljänneksi antioksidanttipitoisuudellaan 7,35, kun taas Kähkösen et. al. [67] rasvan hapetuksen eston tuloksissa mustaherukka sijoittui variksenmarjan, pihlajanmarjan, lakan, karpalon, juolukan, marja-aronian, karviaisen, mustikan ja puolukan jälkeen. Suoritettujen *in vivo* ja kliinisten tutkimusten tulokset ovat olleet huomattavan ristiriitaisia, joten niihin ei tässä paneuduta tarkemmin [14]. Mustaherukan antioksidanttipitoisuus on esitetty luvun 2.2 taulukossa II.

Mustaherukan antosyaaneja sisältävällä valmisteella on saatu lupaavia tuloksia silmien hämäädaaptaation paranemisesta ja näyttöpäätetyöskentelyn aiheuttamien silmien väsymysoireiden vähenemisestä. Japanissa tehdyssä kliinisessä mustaherukkatutkimuksessa tutkittiin mustaherukan antosyaanien vaikutusta näyttöpäätteen äärellä työskentelevien silmien väsymiseen sekä hämäädaaptaatioon käyttämällä mustaherukkamehun antosyaanikonsentraattia (BCA, antosyaanipitoisuus noin 10,83 % ja siitä puhdistettuja antosyaaneja [38, 92]. Hämäädaaptaatio tutkimuksen annoksissa 12 henkilölle oli joko 50, 25 ja 12,5 mg antosyaaneja per annos ja adaptaatiota mitattiin 1 tunti ennen ja 2 tuntia jälkeen nauttimisen. Merkittävä muutos saatiin 50 mg:lla antosyaaneja [39]. Silmien väsymisen kohdalla 21 henkilöä nautti 200 mL joko BCA:ta sisältävää mehua tai lumemehua, minkä jälkeen henkilöt aloittivat kaksi tuntia kestäneen näyttöpäätetyöskentelyn. BCA:ta nauttineilla silmät sekä alaselkä väsyivät vähemmän kuin verrannaisryhmällä.

Kliinisen kokeen tulosta tukevat *in vitro*-tutkimukset. Mustaherukan syanidiinit tehostivat rodopsiinin muodostumista sammakon silmän sauvasoluilla *in vitro*, mutta delfinidiinit eivät [93]. BCA, delfinidiini ja syanidiinirutinosidit relaksoivat sädelihaksen. Kversetiini ja myrsetiini eivät vaikuttaneet lihakseen [94]. Näin ollen olisi teoriassa mahdollista helpottaa likinäköisyyttä ihmisillä [14].

BCA:lla on saatu lupaavia tuloksia myös käsivarren lihaksen verenkierron paranemisesta ja näppäintyöskentelyn aiheuttaman hartioiden lihasjäykkyyden vähenemisestä [14]. *In vitro* on Nakamura et. al. osoittaneet rotan rinta-aortan supistuksen relaksoituvan ja verisuonen laajenevan BCA:n vaikutuksesta endoteeliin ja sen typpioksidin muodostukseen [95]. Eläinkokeessa [96] rotan

reisivaltimon tutkimuksessa BCA alensi läpivirtauspainetta, mikä viittaa rentoutumiseen ja laajentumiseen. Kokeen yhteydessä tutkijat selvittivät eri antosyaanien osuutta ilmiössä ja havaittiin ilmiön johtuvan pääasiassa Delfinidiinirutinosidista ja –glukosidista [14,96].

Verenkierron kliinisissä kokeissa on testattu BCA:n vaikutusta näppäimistötyöskentelyssä hartijoiden lihasjäykkyyteen ja verenkiertoon yhdeksällä sekä 11 henkilöllä [97]. Yhdeksän henkilön kokeessa henkilöt nauttivat 17 mg /kg rp BCA kapselin ja 11 hengen kokeessa 7,7 mg/kg rp BCA kapselin. Yläraajan verenkierto parani huomattavasti 1-2 tuntia kapselin nauttimisesta ja vaikutus säilyi myös antosyaanien poistuttua. BCA myös vähensi kirjoittamisen aiheuttamaa lihasjäykkyyttä, mutta ei vaikuttanut suorituskykyyn, verenpaineeseen, syketaajuuteen, lihasten hapenkulutukseen tai oiretuntemuksiin [97].

Kliinisissä kokeissa ei ole havaittu mustaherukalla olevan vaikutusta veren kolesterolipitoisuuksiin, mutta joissakin eläinkokeissa on tullut esille haitallisia vaikutuksia. Kuten esimerkiksi se, että mustaherukka mehu on nostanut veren kolesteroli- sekä LDL-pitoisuuksia Watanabe-kaneilla eikä vaikuttanut kolesterolin kertymiseen aorttaan tai ateroskleroosin muodotumiseen [98]

Siemenöljyn on eläinkokeessa rotilla [99] sekä yhdessä kliinisessä kokeessa miehillä annoksella 6 g/vrk [100] osoitettu alentavan verenpainetta sekä vähentävän verenpaineen reaktiivisuutta. Alustavaa näyttöä on, mutta tarvitaan kliinisiä kokeita lisää tulosten varmistamiseksi [14].

2.2.7 Variksenmarja

Kaksi suomalaista tutkimusryhmä, Nokynek et. al. ja Rauha et. al., ovat osoittaneet, että variksenmarja estää ruokamyrkytyksiä aiheuttavan *bacillus*-suvun bakteerien kasvua *in vitro*. [27,101] [14]. Ruusunmarjan jälkeen variksenmarjalla on todettu olevan kolmanneksi suurin antioksidatiivisuuskapasiteetti Halvorsen et. al. [19] tekemässä kokeessa, jossa ensimmäisenä oli ruusunmarja 39,46, seuraavana kranaattiomena 11,33 ja kolmantena variksenmarja 9,17. Kähkönen et. al.[67] puolestaan osoittivat variksenmarjasta tehokkaimman antioksidatiivisuudeltaan verrattaessa 92 kasvikunnan tuotteen kykyä estää rasvan hapettumista, jolloin marjauutteiden antioksidanttiteho oli suurempi kuin vilja- tai vihannesuutteiden tai monien yrtti- ja lääkekasviuutteiden. Antioksidanttipitoisuus on esitetty luvun 2.2 taulukossa II. Täten variksenmarja on antioksidanttiteholtaan parhaita muihin marjoihin ja kasvismateriaaleihin verrattuna [14].

2.2.8 Marja-aronia

Marja-aronian mahdollista anti-inflammatorista vaikutusta on tutkittu *in vitro* ja *in vivo* eläinkoemallissa EIU, jossa silmän etummaisessa segmenttiin aiheutetaan akuutti tulehdus LPS:llä(lipopolysakkaridi) tai lipoteelihapolla. Tässä mallissa aroniasta valmistettu raakauute, ACE, vähensi merkittävästi NO, PGE2 ja TNF- α pitoisuuksia riippuen suoraan annoskoosta. Jo 100 mg ACE:tä vaikutti yhtä voimakkaasti kuin 10 mg prednisolon lääkettä. Prednisolon on kortisonivalmiste jota käytetään tulehduslääkkeenä ja joka vähentää myös allergian oireita. Lisäksi ACE:n käyttö esti LPS-peräisten iNOS ja COX-2 proteiinien ilmentymistä. Tämä ilmentymisen esto johtaa NO, PGE2 ja TNF- α tuotannon estymiseen ja tulehdus pysähtyy. On huomattava, että yhdisteet ovat samoja kuin mitä diabeteksessa ilmenee ja näin ollen aronialla on hyvin todennäköisesti diabetesta parantavia vaikutuksia [102].

Aronian raakauute sisälsi sorbitolia 22,9 %, glukoosia 14,5 %, fruktoosia 16,8 %, sitruunahappoa 2,4 %, maleiinihappoa 14,8 %, antosyaaneja (cyanidin-3-glucoside, cyanidin 3,5-diglucoside) 13,5 %, kversetiiniä 1,4 %, kuituja 10,8 % ja tunnistamattomia yhdisteitä 2,8 %. Huomattavaa on, että 1 mg:lla ACE:tta oli vastaava vaikutus kuin 100 mg:lla pelkkää kversetiiniä tai antosyaaneja. Näin ollen tämä viittaisi siihen, että fenoliyhdisteet toimivat tehokkaammin yhdessä kuin erikseen, mutta vaikuttavat joka tapauksessa tulehdukseen todennäköisesti vähentämällä oksidatiivista stressiä antioksidanttivaikutuksen kautta. Tästä olisi tärkeää saada tarkempaa tietoa ihmisillä ja tutkia muita ACE:n vaikutuksia [102].

Aronia valmisteella on havaittu olevan myös verenpainetta alentava vaikutus [103]. Kokeessa 44 henkilöä, joilla oli todettu joko sydäninfarkti tai sydänveritulppa, nauttivat 85 mg kolme kertaa päivässä kuuden viikon ajan joko kaupallista marja-aronian flavonoidiuutetta (OTC) tai lumevalmistetta. Aroniauute koostumuksesta antosyaaneja oli 25 %, polymerisia prosoyanidiineja n. 50 % ja fenolisia happoja n. 9 %. Aroniauute vähensi merkittävästi seerumin LDL:n hapettumista, 8-isoprostans (rasvojen hapettumistuote), CRP ja MCP-1 (Monosyytti kemotaktinen proteiini 1) tasoja. Lisäksi valmiste vähensi merkittävästi niin systolista kuin diastolistakin verenpainetta sekä kasvatti rasvakudoksen adiponectin hormonin tuotantoa. Täten aroniavalmistetta voitaisiin käyttää toissijaisena ehkäisykeinona iskeemisen sydäntaudin hoidossa ja, koska MCP-1 esiintyy reumaattisilla henkilöillä nivelten alueilla aiheuttaen tai lisäten tulehdusta, aroniavalmistetta voitaisiin myös käyttää reumatulehdusten ehkäisyssä ja mahdollisessa hoidossa [103].

Marja-aroniamehua käytettäessä 200 mL päivässä kolmen kuukauden ajan on havaittu sen vähentävän veren glukoosipitoisuutta, seerumin kolesterolia, HbA_{1c}:tä(sokerihemoglobiini eli punasolujen sokeriprosentti) sekä rasva-arvoja tyyppin 2 diabeetikoilla [104, 105].

2.2.9 Ruusunmarja

Ruusunmarjalta löytyy tutkimustietoa huonosti niin *in vitro* kuin kliinisiä tutkimuksia. Tämä marja vaikuttaisi jääneen hieman paitsioon tutkittaessa terveysvaikutuksia. Ruusunmarjat ovat kuitenkin osoittautuneet erittäin hyviksi C- ja E-vitamiinien, karotenoidien sekä proantosyanidiinien lähteiksi. Tämän lisäksi ruusunmarjat sisältävät ellagitanniineja sekä fenolihappoja. C-vitamiinin osalta ruusunmarja saattaa olla jopa paras lähde. C- ja E-vitamiinien sekä karotenoidien lähteinä niiden käyttö esimerkiksi lisäravinteena tai kosmeettisissa tuotteissa voisi olla hyvinkin kannattavaa ja käytännöllistä. Lisäksi fenolihdistepitoisuudet viittaisivat potentiaalisiin terveysvaikutuksiin. Antioksidatiivisilta ominaisuuksiltaan ruusunmarja on huomioon otettava, kuten Halvorsen et. al. ovat osoittaneet tutkimuksessaan, jossa ruusunmarja oli merkittävästi tehokkaampi antioksidanttikapasiteetiltaan kuin muut elintarvikkeet [19, 106] (C-vitamiinit ja marjoista toiseksi suurin fenolihdisteiden pitoisuus).

2.3 Liikalihavuuden ja diabeteksen hoito/ehkäisy

Liikalihavuuden ja siihen liittyvien tautien kuten sydän- ja verisuonitaudit sekä diabetes ennustetaan lisääntyvän maailmalla merkittävästi seuraavien vuosikymmenten aikana. Etenkin tyyppin 2 diabeteksen eli niin sanotun aikuisiän diabeteksen ennustetaan lisääntyvän vyötärölihavuuden lisääntyessä ja elintapojen muuttuessa yhä paikallaan pysyvämmiksi. Tällöin myös muiden metabolisten häiriöiden, kuten insuliinin vastustuskyvyn, kroonisten tulehdusten, endoteelin toimintahäiriöiden, dyslipidemian ja verenpainetaudin (hypertension) riskien ennustetaan kasvavan. Näitä ennakoivia oireita ovat lisääntynyt vyötärölihavuus, kohonnut verenpaine, kohonnut seerumin triglyseridipitoisuus, vähentynyt HDL-kolesteroli ja/tai kohonnut insuliiniherkkyys [107].

Diabetes linkitetään oksidatiiviseen stressiin hyperglycemian sekä dyslipidemian kautta. Hyperglycemian ja dyslipidemian aiheuttamat tulehduksen immuunivaste, oksidatiivinen stressi sekä vapaat radikaalit vastaavat pääosin kuolleisuudesta sydän- ja verisuonitauteihin tyyppin 2 diabeteksessa sekä liikalihavuudessa. Oksidatiivista stressiä ja vapaita radikaaleja hillitsevät erilaiset antioksidantit, joiden puute tai vähäinen saanti on suurin syy sydän- ja verisuonitautikuolleisuuden diabeteksessa [107]. Inflammaatiota ja siihen liittyviä proteiineja sekä

geenien ilmentymistä on havaittu hillitsevän esimerkiksi mustikka, mustaherukka, marja-aronia, karpalo ja tyrni. Näillä marjoilla on myös havaittu selviä antioksidatiivisia vaikutuksia sekä erinäisiä muita hyötyjä *in vitro* ja joitakin myös kliinisissä kokeissa. Täten kuten edellisessä luvun 2.2 eri marjojen kohdalla on tullut esille, voidaan terveydentilaa todennäköisesti hoitaa ruokavaliolla, jossa on joko flavonoidi-, karotenoidi-, askorbiinihappo-, tai tokoferolivalmisteita tai muilta osin paljon marjoja, vihanneksia ja erilaisia marjatuotteita [107]. Lisäksi marjojen ollessa vähä energisiä ja vähä rasvaisia sekä vähä sokerisia voidaan niiden syönnillä vaikuttaa myös lihavuuteen korvaamalla marjoilla tai marjavalmisteilla muita ruoka-aineita.

Esimerkkinä voidaan ottaa mustikka, josta julkaistua kliinistä tietoa sen tehosta tyypin 2 diabetekseen (ehkäisy/hoito) ei ole ja olemassa olevista *in vitro* ja eläinkokeissa on käytetty lähinnä lehdistä ja muista osista kuin marjoista tehtyjä valmisteita. Erilaisten fenolisten yhdisteiden sekä sisältävien elintarvikkeiden vaikutuksista glukoosi-, insuliini-, ja rasva-aineenvaihduntaan sekä *in vitro*, että eläinkokeissa löytyy [12]. Mustikasta ja mustaherukasta valmistettu Medox valmiste estää merkittävästi yhden avaintekijän NF- κ B:n sekä vähentää sen seurauksena syntyvien IL-8 sekä INF- α :n pitoisuuksia [88,107].

Toisena esimerkkinä voidaan valita marja-aronia, josta saatava uute Ohgami et. al. [102] sekä Naruszewicz et. al.[103] tutkimusten mukaan vähentää iNOS ja COX-2 proteiinien sekä 8-isoprostans (rasvojen hapettumistuote), CRP ja MCP-1 tasoja, joilla on selkeä vaikutus tyypin 2 diabeteksen patogeneisuuteen. Lisäksi marja-aroniamehua käytettäessä 200 mL päivässä kolmen kuukauden ajan on havaittu sen vähentävän veren glukoosipitoisuutta, seerumin kolesterolia, HbA_{1C}:tä(sokerihemoglobiini eli punasolujen sokeriprosentti) sekä rasva-arvoja tyypin 2 diabeetikoilla [104,107].

Näiden lisäksi diabeteksen yhteydessä esiintyy yleensä myös verisuonivaurioita, laskimoiden ja valtimoiden supistumisia, hiussuonten tuhoutumista jne. Mustaherukalla ja mustikalla on havaittu olevan verenkierröllisesti parantava vaikutus ääreisverenkiertoon sekä verisuoniston terveyteen. Tämä vastaava vaikutus saattaa olla myös marja-aronialla sekä variksenmarjalla. Tyrniöljyillä on myös havaittu verisuonia laajentava ja relaxoiva vaikutus. Näin ollen edelleen tarvitaan kliinisiä tutkimuksia niin diabeetikoilla kuin sydän- ja verisuonitautipotilailla marjojen vaikutuksista. Yksittäisiä fenoliyhdisteitä, jotka olisivat vastuussa näistä vaikutuksista, on löydetty vähän ja mitä ilmeisimmin yhteisvaikutukset ovat huomattavan tehokkaita verrattuna yksittäisiin komponentteihin.

Tunnistettuja diabetekseen tai sen osatekijöihin vaikuttavia yksittäisiä aktiivisia aineita ovat esimerkiksi kversetiini, katekiinit ja resveratrol, jotka vaikuttavat NF- κ B reittiin inhiboimalla adheesiomolekyylejä ICAM-1 ja VCAM, proteiineja MCP-1, MIP-1 α ja MIP-1 β sekä kemokiini reseptoreita CCR1 ja CCR2, joista CCR2:n inhibitio vähentää IL-6:n, VEGF:n, TGF β :n ja IL-10:n ilmenemistä. Lisäksi muita tunnistettuja aineita, joilla voidaan vaikuttaa tautien etenemiseen ja hoitoon, ovat antosyaanit, epigallokatekiini, epikatekiini, gallokatekiini, klorogeenihappo jne [107].

Antosyaanit saattavat ehkäistä tyypin 2 diabetesta ja liikalihavuutta vaikuttamalla glukoosin absorptioon, insuliinin määrään, eritykseen sekä toimintaan ja lipidien metaboliaan. Positiivisia tuloksia on saatu sekä *in vitro*, että *in vivo*. Ruoansulatuksessa antosyaanien hidastaman glukoosin vapautumisen takia glukoosin absorptiosuolistoon hidastuu. Samanaikaisesti insuliinin eritykseen lisääntyy delfinidiini- ja syanidiiniglukosidien ja syanidiini galaktosidien vaikutuksesta, minkä lisäksi antosyaanit vaikuttavat solukiertoon, signaalien välitykseen, lipidien ja hiilihydraattien metaboliaan liittyvien geenien ilmentymiseen [107].

Edellä esitetyistä todisteista huolimatta ei ole vielä osoitettu flavonoidien tai flavonoidirikkaiden elintarvikkeiden syönnin vähentävän tyypin 2 diabeteksen riskiä ihmisillä, kuten punaviinien sekä muiden alkoholia sisältävien juomien [107]. Punaviineistä ei tosin tulokinnassa ole huomioitu merkittävää flavonoidipitoisuutta.

2.4 Fenolihdisteiden jalostus ja analytiikka

Huomioitavaa on, että pitkälle prosessoiduissa fenolihdistevalmisteissa voi olla ja tutkimuksen mukaan onkin pitoisuutena vähemmän ”aktiivisia aineita” (<100 mg/ vuorokautinen annos) kuin vähän prosessoiduissa marjatuotteissa (500 mg/100 g marjoja) [12]. Tämä riippuu osittain prosessista, mutta voidaan pitää suunnilleen paikkansa pitävänä. Prosessoinnin vaikutuksista eri fenolihdisteisiin pitäisi saada lisää tietoa, jotta erilaiset jalostusprosessit saataisiin tehokkaiksi eikä raaka-ainetta valuisi hukkaan. Lisäksi tässä on huomioitava se, että eri marjoilla samat fenolihdisteet saattavat käyttäytyä eri tavoin eri olosuhteissa, jolloin tätäkin tietoa tarvitaan jatkojalostusta mietittäessä [108].

2.4.1 Jalostus

Erilaisia prosessivaihtoehtoja ovat uutto vedellä tai alkoholilla ja absorptio tai neste-neste-uutto erotus sekä vaihtoehtoisesti suora kuivaus ja jauhatus ilman uuttoa. Uutto voidaan tehdä mehuille, puristemassoille, sivuvirtoina saataville lehdille, oksille, kuorille ym. sekä suoraan itse marjoille.

Syntyneet fenolivalmisteet voidaan useimmiten lisätä sellaisenaan (kuivana jauheena) elintarvikkeisiin tai tehdä niistä tabletteja [108]. Uuttoprosessi on yleisin jalostustekniikka ja se voidaan jakaa 6 eri osaan Daugherty et. al.[109], Gourdin et. al.[110] sekä Tempesta et. al.[111] patenteissa esitettyjen mallien mukaisesti. Nämä osat ovat:

1. Uutto raaka-aineesta vesipohjaiseen happamaan liuokseen
2. Liukenemattomien ainesosien suodatus
3. Kuormituksessa kiintoaineeton uute kontaktiin adsorbenttiin (polymeerihartsin) kanssa kunnes ei enää adsorboi yhdisteitä (Break trough)
4. Hartsin pesu uutuksessa olevista fenoleihin kuulumattomista, hartsin kiinnittymättömistä yhdisteistä kuten sokerit
5. Fenolisten yhdisteiden eluointi hartsista etanoli-vesiseoksella
6. Fenolipitoisen eluaatin konsentrointi sekä kuivaus

Ennen uuttoon kasvit (lehdet, oksat, kuoret, rungot jne.), hedelmät ja marjat pitää kuivata, jonka jälkeen ne jauhetaan mahdollisimman pieniksi kappaleiksi. Jauhatus voidaan tehdä esimerkiksi kuulamylyllä tai käsin huumareella laboratorioissa. Kasvien kiinteämmät osat kuten esimerkiksi varvut käsitellään nestetyppellä tai tehdään muuten hauraammiksi [112].

Fenolisten yhdisteiden uutossa ja muussa käsittelyssä on huomioitava elintarviketekniikan säädökset ja näin ollen käytettävä elintarvikkeiden valmistukseen soveltuvia kemikaaleja, jotka ovat regeneroitavissa sekä eivät aiheuta liiallista kuormaa ympäristölle tai kasvata kustannuksia [108]. Näin ollen prosessin kannalta olennaisimmiksi kemikaaleiksi ja materiaaleiksi nousevat vesi ja etanoli sekä mahdollisimman tehokas adsorbentti (pieni tilantarve ym.) tai vaihtoehtoisesti selektiivinen suodatuskalvo. kalvoilla erotus ei ole vielä ilmeisesti oikein onnistunut tai sitä ei ole tutkittu riittävästi, koska aiheesta on patenteja huomattavan vähän. Kuivauksessa voidaan käyttää pakastekuivausta (kallis) [108], sumutuskuivausta [113] tai kuivausta kantaja-aineen kanssa [114] hyvän jauhemaisen jakeen muodostamiseksi.

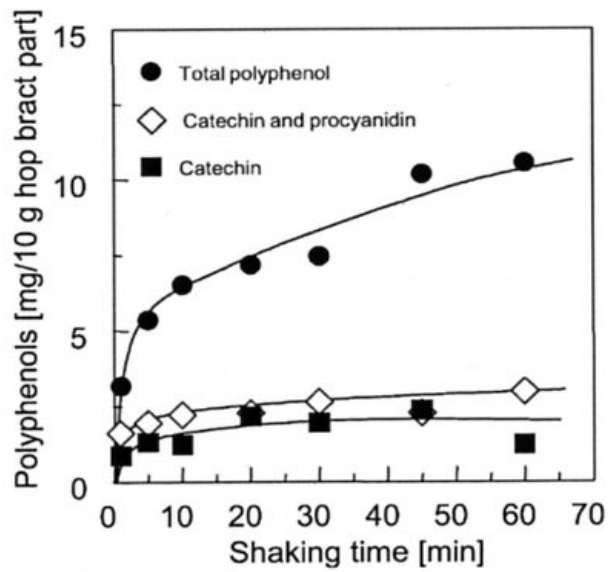
Uuttoliuoksen pH vaikuttaa saantoon, koska uutettavat yhdisteet eivät ole stabiileja neutraalissa tai emäksisessä liuoksessa. Näin ollen pH:n pitää olla hapan, jotta uutto onnistuisi. Uuton tehokkuuteen pH:lla ei varsinaisesti ole vaikutusta. Xiaoyun Xu:n ryhmä [115]. on osoittanut, että mahdollinen

optimaalinen pH proantosyanidiineille on vähän alle 5, kun taas antosyaaneille Gabetta ja Zini [116] suosittelevat pH 3 ja lämpötilaksi alle 40 °C. Näissä pH:n arvoissa yhdisteet ovat vielä stabiileja, mutta liuos ei ole liian hapan.

Tempesta et. al. [111] ja Bailey et. al. [117] patenteissa rikastus tapahtuu marjoista puristetusta happamista mehuista, puristekakusta tai kuivatun marjan vesi-etanoliuutteesta. Tämän uutteen etanolipitoisuus on 0-95 % happopitoisuuden (esim. HCl, H₂SO₄ tai CH₃COOH) ollessa 0-3 %. On myös mahdollista parantaa mehun saantoa soluseiniä hajottavalla entsyymikäsittelyllä [2, 118], jolloin mehun saanto sekä puristekakun kuiva-ainepitoisuus kasvavat. Lisäksi on havaittu, että tällöin mehussa on enemmän fenolisia yhdisteitä kuin ilman entsyymikäsittelyä [2].

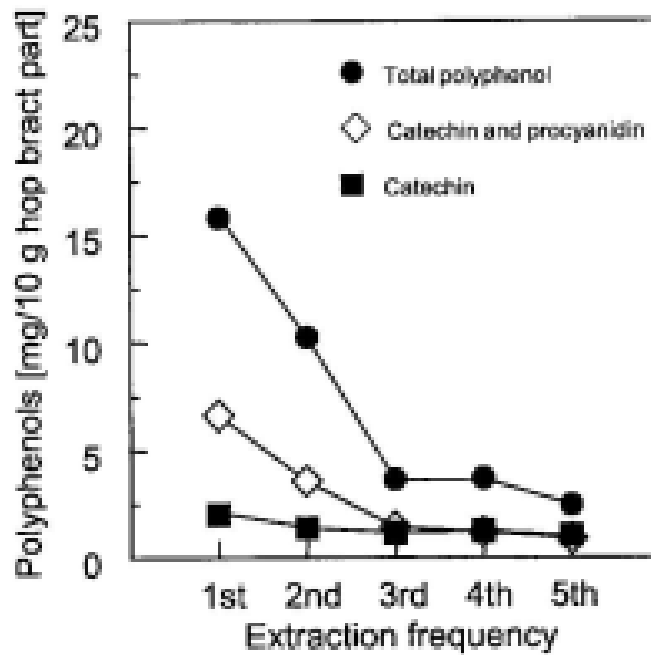
Daugherty ja Tempesta [119] patentin yhdessä esimerkissä mustikkapakastetta laimennettiin vedellä lisäämällä vettä noin puolet marjamäärästä. Syntynyt seos homogenisoitiin ja käsiteltiin sekoituksessa pektinaasilla 30 minuutin ajan 40 °C lämpötilassa, jonka jälkeen seos väkevöitiin rikkihapon suhteen 0,5 %:ksi ja lämpötila nostettiin 45 °C 15 minuutiksi. Lopuksi suodatus dikalsiittipedin sekä 25 µm painesuodattimen läpi. Toisessa esimerkissä kuivatun mustikan uutto suoritettiin rikkihapolla happamaksi tehdyllä vedellä. Ensimmäisessä askeleessa kuusin- ja kahdessa seuraavassa nelinkertaisella vesimäärällä alkuperäiseen mustikkaraaka-aineeseen nähden. Tämän jälkeen suodatettiin 2,3 L uutetta 30 µm polypropyleenisuodattimella, josta suodatettua uutetta sekä pesuvettä kertyi 2,43 L antosyaanisaannolla 90,9 % [108, 119].

Yamamoto et. al.[120] tasoravistelututkimuksessa on havaittu uutteen saavuttavan proantosyanidiinien suhteen tasapainotilan noin 10 minuutin tasoravistelun jälkeen, jolloin proantosyanidiineja ei enää uuttaudu humalasta uuttoreagenssiin [120]. Kuvasta 11 on nähtävissä alkuperäisen tasoravistelukokeen tulos. Kuvassa on tasoravistelu-uutteen kesto ja uuttautuneet polyfenoliset yhdisteet. Tasapainon saavuttamiseen tarvittu aika oli sama kaikilla tutkituilla reagensseilla, joita olivat metanoli, etanoli, vesi ja 1-propanoli [120].



Kuva 11. Reagenssin ja uutettavien aineiden (katekiinien, prosyaniidiinien ja polyfenolisten yhdisteiden) tasapainon muodostuminen uuton edetessä. Uuttomenetelmänä tasoravistelu [120].

Fenoliyhdisteiden pitoisuus putoaa nopeasti uutettaessa, joten kovin monen uuttoaскеleen käyttö ei ole kannattavaa. Esimerkiksi humalalle riittäisi kaksi uuttoaскеelta kuvassa 12 esitetyn Yamamoto et. al. kokeen mukaisesti [120].



Kuva 12. Humalan fenolisten yhdisteiden pitoisuus putoaa voimakkaasti ensimmäisissä uutoissa. Uuttoreagenssina on käytetty etanolia uuttoaajan ollessa 60 minuuttia [120].

Kuten aiemmin on jo mainittu, on jatkojalostus ajoitettava kasvikohtaisesti parhaaseen aikaan, jolloin polyfenolisten yhdisteiden pitoisuudet ovat korkeimmillaan eikä kasveja ole varastoitu liian kauan. Kasvien, marjojen ja hedelmien proantosyanidiinien ja muiden polyfenolisten yhdisteiden, pitoisuudet vaihtelevat eri kasvuvaiheissa ja varastoinnissa polyfenolisten yhdisteiden pitoisuudet laskevat hajoamisen ja muiden yhdisteiden kanssa reagoimisen takia.

Erotusvaiheessa voidaan valita joko adsorptio- tai kalvoerotus, joista adsorptio on tutkitumpi sekä tämän hetken tiedon mukaisesti tehokkaampi sekä selektiivisempi. Adsorptiossa joko fenoliset yhdisteet tai epäpuhtaudet adsorboituvat kiintoaineen pinnalle, jolloin toinen fraktio saadaan läpivirtauksesta ja toinen on erikseen desorpoitava liuottimella kolonnista. Operaatio tehdään yleisimmin adsorboimalla fenoliset yhdisteet adsorbenttiin. Tämä voidaan toteuttaa joko yksivaiheisena rikastuksena, jossa on lataus ja eluointi vaiheet tai monivaiheisena sisältäen eripitoisen liuottimen jokaisessa askeleessa, joista viimeisessä on väkevin liuottin [108].

Adsorption toteutuksessa on huomioitava desorptiovaiheessa tapahtuva laimeneminen. Kiintoaine on pakattuna kolonniin ja pakatun pedin korkeus on yleensä vähintään 1,5-kertainen kolonnin leveyteen verrattuna. Erotuksen kapasiteetti riippuu suoraan pedin korkeudesta ja leveydestä, joista leveyttä yleensä kasvatetaan lisättäessä kapasiteettia. Korkeuttakin voidaan kasvattaa joko leveyden kanssa yhdessä tai yksin, mutta korkeuden kohdalla on vaarana painehäviön kasvaminen liian suureksi [108].

Adsorbentti on tässä yhteydessä yleensä hydrofobinen neutraali polymeerihartsit (esim. styreenin ja divinyylibentseenin kopolymeeri), jonka partikkelikoko on teollisissa prosesseissa yleensä 200 ja 700 μm välillä. Fenolisten yhdisteiden adsorboimisessa toimivat tehokkaimmin suuren ominaispinta-alan ja pienen sisäisen diffuusiovastuksen omaavat hartsit, joten makrohuokoiset hartsit ovat suositeltuja käytettäväksi adsorbentteina. Ennen käyttöä hartsit on elvytettävä, mikä tarkoittaa hartsin pesua valmistajan ohjeiden mukaisesti emäksellä, hapolla ja etanoliliuoksilla. Käytössä fenoliyhdisteitä sisältävä neste kulkeutuu tulppavirtauksena kolonnin läpi useimmiten ylhäältä alaspäin, minkä aikana fenoliyhdisteet adsorboituvat ja muut yhdisteet kuten sokerit, suolat ja orgaaniset hapot eivät adsorboitu hartsiin. Ei-fenoliset ovat pestävissä hartsista vedellä [108].

Fenoliset yhdisteet eluoidaan pesun jälkeen vesi-etanoliliuokseen, joka on 50–95 % etanolia ja 5–50 % vettä. Liuosta kuluu 1-12 kertaa hartsipedin tilavuuden verran ja nostettaessa etanolipitoisuutta 90 % uuttuvat hartsista myös proantosyanidiinit antosyaanien lisäksi. Hartsista eluoidun ekstraktin fenoliyhdisteiden pitoisuus voi olla 70–75 % kuiva-aineesta. Useimmiten hartsin valmistaja antaa tietoja koskien hartsin käyttöä, kuormitusta, käsittelyä ym. ja näitä hartseja ovat kaupalliset, elintarvikekelpoiset ja kestävät polymeerit kuten esimerkiksi XAD 16, XAD 4, XAD 7HP ja SP-2007. Näistä hartseista XAD 16 ja XAD 4 ovat PS-DVB–hartseja, XAD 7HP on polyakryyliesterihartsi ja SP-207 on huokoinen brominoitu styreenipolymeerihartsi. Rohm & Haas valmistavat XAD–hartseja ja Supelco tuottaa SP-207:ää. Muita mahdollisuuksia ovat vielä polyamidi tai dekstraanipolymeerit (Sephadex LH 20, Amersham biosciences) [108].

Patenttikirjallisuudessa on runsaasti esimerkkejä adsorptioerotusvaiheesta. Solier ja Dufour (121) esittävät 25 L:lla Amberlite XAD 16–hartsilla tehdyn erotuksen, jossa kaadettiin 70 L mustikkauutetta kolonniin ja hartsi pestiin 105 litralla demineralisoitua vettä sekä eluoiitiin pesun jälkeen 200 litralla 40 % etanolilla. Konsentroidi oli toteutettu alipaineessa 26–31 °C, jossa etanoli otettiin talteen ja vesi sumutuskuivattiin 53 % antosyaaneja sisältäväksi jauheeksi. Gourdin et. al. patentissa [122] selvitettiin kuormituksessa käytettävän kiintoaineettoman uutteen määrän riippuvuutta raaka-aineesta. Esimerkiksi käytettäessä SP-207-hartsia kiinnittyi mustikan ekstraktista 16–30 g fenolisiyhdisteitä hartsiin kun määrä oli pensasmustikan ekstraktilla 15–45 g ja seljauutteella 15–40 g.

Daugherty ja Tempesta WO 2006014499 patentissa [119] on kaksi esimerkkiä, joissa molemmissa käytettiin SP-207 hartseja. Ensimmäisessä oli hartseja 170 mL ja sitä kuormitettiin 2,4 litralla mustikkauutetta, jonka jälkeen kolonni pestiin 0,1 % etikkahappoliuoksella ja tuotteet eluoiitiin 70 % etanoliliuoksella saaden antosyaanipitoisuudeksi eluaattiin 40 % kuiva-aineesta 79 %:n saannolla. Toisessa esimerkissä 2,24 litralla kuivatun mustikan rikkihapolla uutetulla uutteella kuormitettiin 2,2 mL/min hartsipetiä, jossa oli 170 mL hartseja. Fenolisten yhdisteiden hävikiksi Daugherty ja Tempesta määrivät 0,9 % kuormituksessa ja 4,1 % pesujen jälkeen. Kuivatuksen jälkeen eluointijakeessa oli antosyaanipitoisuus 43 % 88,4 %:n saannolla [119].

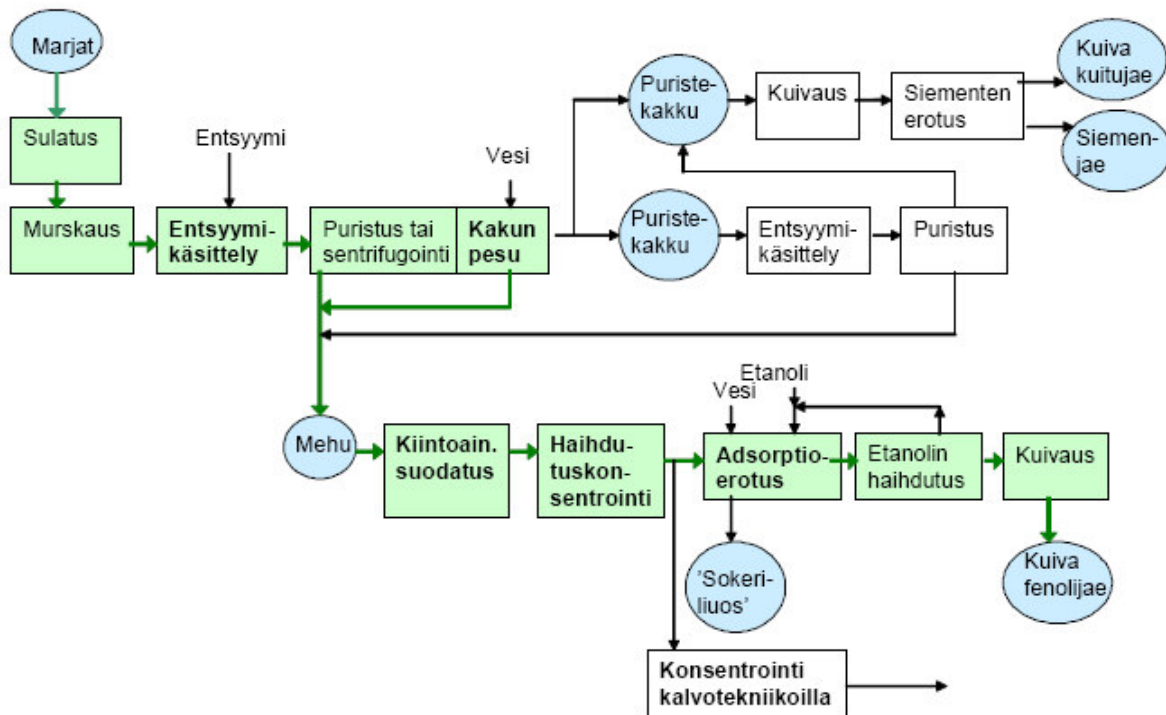
Siemenistä saadut saannot ovat olleet patenteissa alle 10 %, mutta tuotteen polyfenolipitoisuudet ovat puolestaan olleet korkeita. Hu CN 1923891 patentissa [123] esitellään rypäleiden siemenistä kuumalla 95 °C:n vedellä tehty uutto ja erotus makrohuokoisella polymeerihartsilla. Uutto oli tehty 40–60 % etanolilla ja etanolin talteenotto 70 °C:ssa 0,4–0,6 bar paineessa, jolloin tuotteen

pitoisuudeksi Hu sai >95 %, mutta 6 %:n saannolla. Shrikhande et. al. [124] saivat greipin siemenistä tehdyn uutun kuivatun jauheen fenolisten yhdisteiden pitoisuudeksi 89–93 % saannoilla 1,7–2,4 %. Shrikhanden mukaan kokonaisfenolimäärä laski käsittelyssä kolmanneksen uutteeseen verrattuna. Shrikhanden et. al. patentissa erotukseen käytettiin XAD 7HP–hartsia 25 L:aa, jota kuormitettiin uutteella nopeudella 62,5 L/h ja pestiin 25 L:lla vettä sekä eluoiitiin polyfenolit 25 L:lla 95 %:sta etanolia nopeudella 25 L/h. Tästä Shrikhanden et. al. saivat fenolipitoista eluenttia 31 L [124].

Siemenöljyjen hyödyntämiseen ja käyttöönottoon on Aromtech Oy:lla jo soveltuva prosessi, jossa siemenistä saadaan öljyt hellävaraisesti ja hyvällä saannolla käyttäen ylikriittistä hiilidioksidiuuttoa. Huomattavaa on kuitenkin se, että menetelmä on kallis [2].

Vaihtoehtoinen lähestymistapa on neste-neste-uutto adsorptioerotuksen sijaan, mutta oman kokemuksen mukaan erotuksen saannot sekä pitoisuudet jäävät huonoiksi. Toisaalta tätä olisi hyvä tutkia lisää, mikäli aiheeseen liittyviä ideoita on olemassa, koska tällä aihealueella on patenteja huomattavasti vähemmän kuin adsorptiopuolella. Kolmantena vaihtoehtona on kalvoerotus, mutta tästä on hyvin vähän tietoa tai käyttökokemuksia. Mikäli selektiivisen kalvon saa toimimaan, voi se olla jopa parempi kuin adsorptioerotus, koska tällöin ei tarvittaisi eluointeja ym.

Mahdollinen fenoli- ja antosyaaniuutteen valmistusprosessi on esitetty kuvassa 13 ja sen ovat laatineet Olavi Myllymäki et. al.[108].

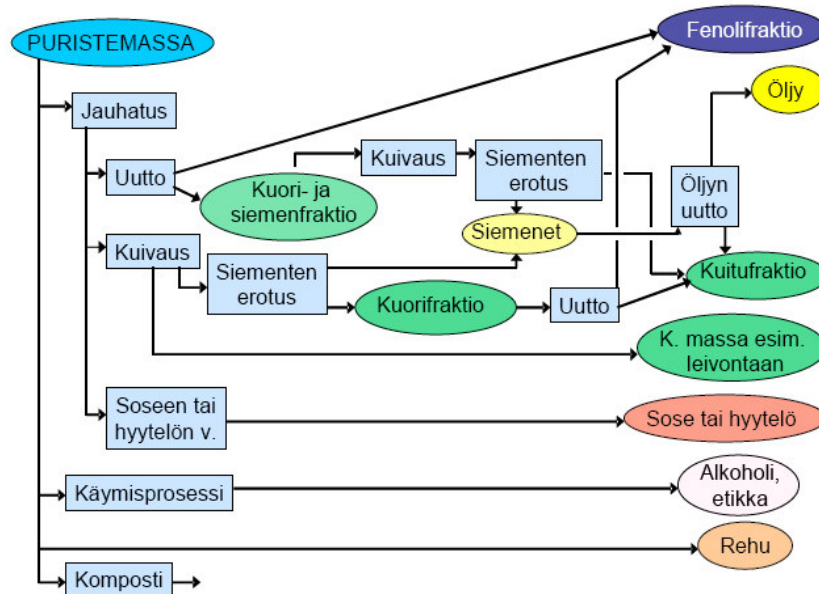


Kuva 13. Fenoli-/antosyaaniuutteen valmistusprosessi [108].

Valmistusprosessissa on oletuksena, että raaka-aineena on pakastettumarja, jonka mehusta valmistetaan kuiva fenolijae. Kuvan 13 prosessiin on liitetty entsyymikäsittely hajottamaan marjojen pektiiniä, lisäämään mehun saantoa sekä fenolisten yhdisteiden osuutta mehussa. Lisäksi pektiini aiheuttaa ongelmia adsorptioerotuksessa sekä kuivauksessa, joten se on joka tapauksessa poistettava. Marjoista niin mustaherukalla, puolukalla kuin karpalollakin on korkea pektiinipitoisuus, joten ne on entsyymikäsiteltävä pektinaasientsyymeillä kuten polygalakturonaasi sekä pektiinilyaasi. Lisäksi valmisteissa on usein mukana myös glykosidaaseja, joita ovat esimerkiksi α -arabinosidaasi, β -galaktosidaasi ja β -glukosidaasi. Glykosidaasien läsnäolo voi heikentää muutamien fenoliyhdisteiden kuten antosyaanien sekä proantosyaanien stabiilisuutta ja vähentää täten saantoa. Lisäksi on muistettava tehdä entsyymikäsittely marjojen vaatimissa olosuhteissa eikä entsyymeille optimaalisissa oloissa. Mehusta suodatetaan tai sentrifugoidaan erilleen kiintoaineet koosta riippuen. Suodatettu mehu konsentroidaan sopivan väkeväksi adsorptioerotusta varten [108].

Puristekakusta kuivaa fenolijaetta ei voida tehdä yhtä helposti kuin mehusta, vaikka siihen jää prosessista ja marjasta riippuen 20–50 % fenolisista yhdisteistä. Ongelmana tässä erotuksessa on, että fenoliset yhdisteet ovat sitoutuneet voimakkaasti kuitufraktioon ja niiden erottaminen on hankalaa ja on onnistunut tähän mennessä vain pienillä saannoilla VTT:n ja Kuopion yliopiston

yhteyshankkeissa Maxfun (EU) sekä Enzmarja (MMM). Tähän liittyen Katariina Roininen et. al. ovat esittäneet erilaisia puristemassan hyödyntämismahdollisuuksia, jotka on esitetty kuvassa 14 [2].



Kuva 14. Puristemassan hyödyntämismahdollisuuksia [2].

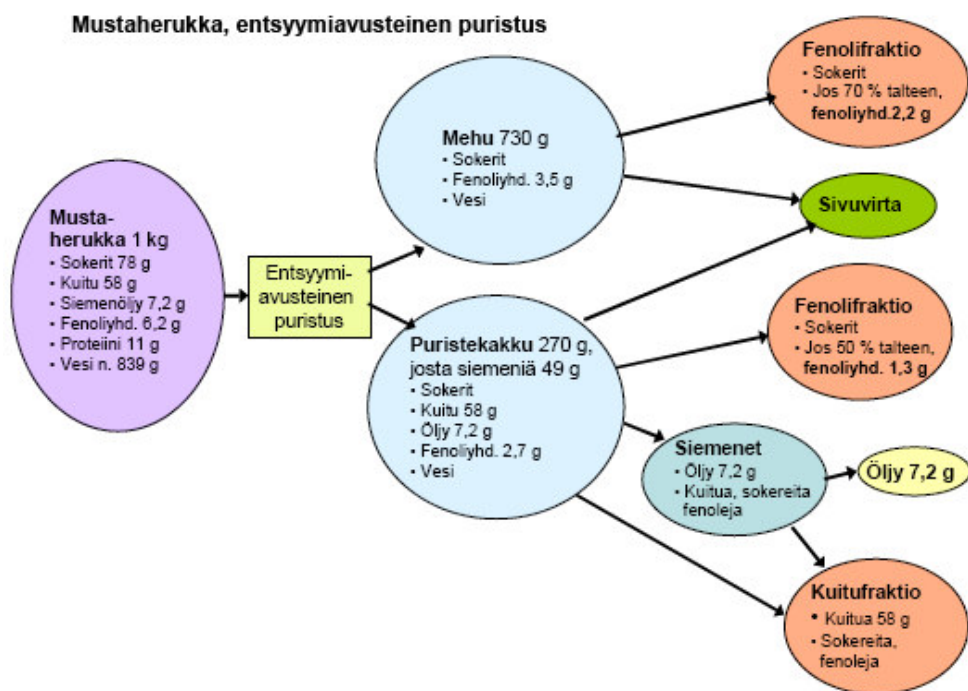
Puristekakku syntyy 20–30 % alkuperäisestä raaka-aine määrästä ja se on käsiteltävä suoraan tai kuivattava, koska pilaantuu nopeasti. Kakku sisältää flavonoidien lisäksi paljon kivennäisaineita, vitamiineja ja väriaineita. Kuvassa 14 olevan kaavion mukaisesti kakku on useimmiten käsiteltävä (jauhettava, liuotettava jne.) jatkokäyttöä varten muissa paitsi käymis- sekä kompostikäytössä. Jauhatuksen jälkeen voidaan vaihtoehtoisesti uuttaa massasta fenolifraktio ja erotella kuori- ja siemenfraktio omakseen, kuivata jauhe leivontaan ja seuloa siemenet erilleen tai tuottaa sosetta tai hyytelöä koko jauheesta [2].

Kuivauksen kautta saadaan puristekakusta kuitupitoinen tuote eri käyttötarkoituksiin. Kuivattuna puristekakku säilyy pitkiä aikoja huoneenlämmössä, on kevyt, vie vähän tilaa, toimii tarvittaessa lähteenä ravintoaineille, edistää raaka-aineiden hyödyntämistä sekä sitä voi käyttää hapan leivonnassa (raskitus) muiden paitsi kauran kanssa. Puristekakut sisältävät myös mikrobeja, hiivoja ja happoja, jolloin ne ovat hyviä hapatteita, parantava leivonnassa makua sekä kohentavat ravintoarvoja. ALMA-hankeessa on tutkittu kuivatun puristemassan käyttöä leivonnassa, välipalapatukoissa sekä hillon/soseenkaltaisissa tuotteissa. Hapatteiden käytössä massat lisäksi lisäävät leivän säilymisaikaa. Erityiskysymyksenä leivonta käytössä on se, että leivonnan ja

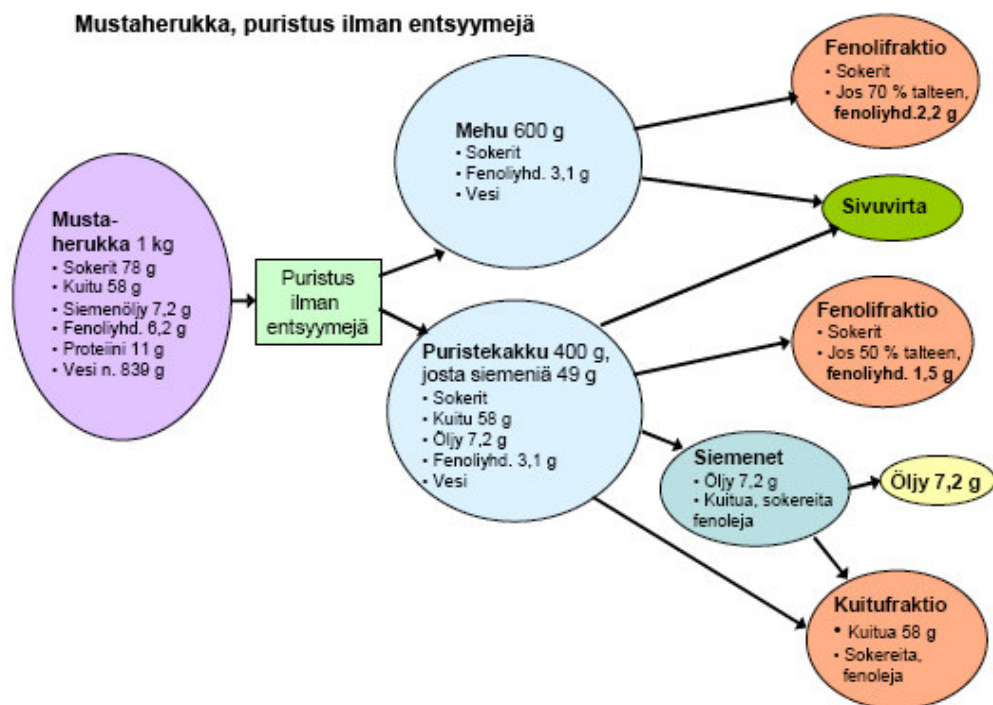
tuotteiden hinta ei voi nousta paljon, koska ovat pitkälle kilpailutettuja. Toisaalta kannattavuutta tai tukea ajatukselle lisää se, että jos tuote on testihenkilöiden mielestä hyvää ja se lyö läpi niin tuote saa puolelleen kuluttajat tai vaihtoehtoisesti hyödynnetään jo ennestään tunnettujen tuotteiden imagoa. Tällöin, mikäli kuluttajan luottamus sekä lojaalius saavutetaan, niin hinnalla ei ole enää välttämättä niin suurta merkitystä riippuen tietenkin henkilöiden taustoista [2].

Puristekakkua voidaan käyttää myös käymisessä raaka-aineena alkoholituotteille tai viinietikan valmistuksessa (erittäin korkealaatuiset puristemassat). Viinietikan valmistus vaatii, että jakeessa on vain yhtä marjalajiketta samanaikaisesti, koska muuton valmistus ei onnistu. Lisäksi on mahdollista luoda hillonkaltaista tuotetta esimerkiksi täytehilloksi leivonnaisiin tai muihin tuotteisiin. Myös mahdollinen käyttö jälkiruokakastikkeena (sose) tai muuna vastaavana on toteutettavissa [2].

Esimerkkinä entsyymikäsitteystä on kuvassa 15 esitettynä mustaherukan puristuksessa entsyymien kanssa ja kuvassa 16 ilman entsyymejä yhdisteiden jakautuminen kakun ja mehun välillä. Näillä kuvilla voidaan havainnollistaa entsyymien tehoa sekä sitä miten fenoliyhdisteiden määrä mehussa lisääntyy selvästi.



Kuva 15. Mustaherukan fraktioinnin ainetaseet entsyymiaivusteisessa puristuksessa [2].



Kuva 16. Mustaherukan fraktioinnin ainetaseet entsyymittömässä puristuksessa [2].

Edellä esitellyn aineiston pohjalta voidaan sanoa, että jalostaminen ja fenolisten yhdisteiden eristäminen teollisessa mittakaavassa on mahdollista ja prosessiin kuuluvat yksikköoperaatiot sekä teknologia ovat tunnettuja. Jalostukseen liittyviä patenteja on julkaistu lähivuosina huomattavasti, mutta tämä ei estä yksityiskohdiltaan erilaisella prosessilla tuotettujen fraktioiden hyödyntämistä mainituissa käyttökohteissa. Jatkon kannalta on välttämätöntä kokeellisesti ja simuloimalla optimoida prosessia ajatellen tehdassuunnittelua, jotta voitaisiin arvioida prosessin investointi- ja käyttökustannuksia sekä saada tarkempaa kuvaa mahdollisesta mittakaavasta [108].

Tärkeimpänä yksikköoperaationa on adsorptioerotus, jonka lisäksi puristekakun kiintoaineen erotus, puristekakun pesu sekä marjojen entsyymikäsittely ovat merkittäviä operaatioita. Kuivaus on myös optimoitava, mutta nyt tässä yhteydessä sen voidaan olettaa olevan toissijainen. Adsorptioerotukseen vaaditaan kaksi tai useampia kolonneja sekä välisäiliöitä korkeamman konsentraation aikaansaamiseksi kierrätysvirroilla. Erotusmateriaalilta vaaditaan korkeaa adsorptiokapasiteettia ja hyvää eluoitavuutta, joiden välillä on löydettävä optimaalinen kompromissi eluentikoostumuksen kanssa. Niin kolonnin kuormitettavuus, ajettavuus, syöttöliuoksen konsentraatio kuin kolonnin kapasiteettikin on määritettävä kokeellisesti simulointia varten. Adsorptiolta kokonaisuutena voidaan vaatia korkeaa puhtautta ja saantoa, alhaista eluentin kulutusta (m^3/kg) ja korkeaa spesifistä tuottavuutta ($kg/m^3/a$). Lisäksi mikäli valmistetaan jauhemaisia

polyfenolivalmisteita, on entsyymikäsittelyn onnistuttava, jotta saannot sekä tuottavuus pysyvät hyvinä. Ongelmat pektiinin käsittelyssä heijastuvat suoraan tuottavuuteen [108].

2.4.2 Analytiikka

Analysoitaessa fenolilyhdisteitä näytteiden pitoisuudet voidaan määrittää HPLC-DAD ja HPLC-ESI-MS laitteistoilla. Näytteet suodatetaan 0,45 µm suodattimen läpi ennen injektiota HPLC-laitteistoon. HPLC kolonnina analyyseissä käytetään yleisesti silica-kolonneja. Määttä-Riihinen et. al. ovat käyttäneet LiChroCART Purospher RP-18e kolonnia vastaavalla suojakolonnilla. Antosyaanien askelittaisessa erotuksessa Määttä-Riihinen et. al. ovat käyttäneet asetonitriiliä 5 %:ssa muurahaishapossa seuraavasti: 5-10 % asetonitriiliä (0–5 min), 10 % asetonitriiliä (5–10 min), 10–40 % asetonitriiliä (10–25 min) ja 40–90 % (25–35 min). Paremman flavan-3-olien ja dimeeristen sekä trimeeristen proantosyanidiinien erotuksessa askeleet ovat 5 % asetonitriiliä 0–5 min, 5–20 % 5–35 min ja lopuksi 90 % 35–45 min. Lopussa paluu lähtötilanteeseen 5 min ja kolonnin tasapainotus 10 min. Virtausnopeutena käytetään näissä metodeissa kokoajan 0,5 mL/min ja tarkkuutta voidaan seurata ajamalla kolonnin läpi jokaisen koeajosarjan jälkeen standardoitu seos p-hydroksibenzoehappoa, rutiinia ja kahvihappoa [125].

HPLC-DAD:a käytetään UV-Vis analyysiin ja kvantifointiin. Fenolilyhdisteiden tunnistus perustuu niiden affiniteettiin ja siten retentioaikoihin sekä tulosten vertailuun standardien sekä aallonpituuden maksimaalisen absorption kanssa. Vapaiden ja liittyneiden gallihappojen, ellagihappojen sekä ellagitanniinien jaottelu perustuu tyypillisiin spektrin ominaisuuksiin. Matalan alhaisen molekyylipainon proantosyanidiinit näkyvät vastaavalla UV-spektrillä kuin flavan-3-olit. Hydroksikanelihappojen, flavonoliglykosidien sekä antosyaanien tunnistuksen Määttä-Riihinen et. al. perustavat olemassa olevaan kirjallisuuteen (Pyysalo ja Kuusi 1974, Azar 1987, Herrmann 1989, Häkkinen ja Auriola 1998, Yan et. al. 2002, Mullen et. al. 2003, Zheng ja Wang 2003, Kärppä et. al. 1984, Andersen 1985, Goiffon et. al. 1991, Espin et. al. 2000, Huopalahti et. al. 2000, Chandra et. al. 2001) marjojen osalta. Flavonoliglykosidien olemassa olo varmennetaan tässä metodissa vapauttamalla aglykonit happohydrolyysillä ja liukenemattomat proantosyanidiinit depolymerisoidaan syanidiiniksi, delfinidiiniksi ja pelargonidiiniksi happohydrolyysillä [125].

Luontaiset polyfenolit tunnistetaan HPLC elektronisuihkuionisaatiomassaspektrometrillä (ESI-MS). Olosuhteet positiiviselle ja negatiiviselle ionisaatiolle metodissa olisivat kapillaariputkissa +4,5 kV ja -3 kV vastaavasti lämpötilan ollessa 225 °C. MS:llä suoritetaan ajo alueella m/z 150–1500 käytettäessä 200 ms aikaa ionien kerääjässä. Lisäksi voidaan käyttää MS:ää tandemina heliumin

ollessa törmäyskaasuna ja törmäysenergian ollessa 30 %. MS:llä saadaan positiiviset ja negatiiviset molekyyläriset ionit, joista tandemilla löydetään suurimmat pitoisuudet törmäyksen indusoiman dissosiaation kautta [125].

Tunnistetut yksittäiset yhdisteiden määrät lasketaan metodissa käyttämällä vastaavien standardien standardikäyriä määrittämisen lineaarialueella. Vastetekijät määritetään valmiiksi tehdyistä liuoksista seuraavilla aglykonien konsentraatioalueilla: antosyaanit 1,5–85 mg/L ja muut fenoliset yhdisteet 2–250 mg/L. Antosyanidiinit ja antosyaanit analysoidaan hapotetussa (0,6 M HCl) metanoliliuoksessa. Vastaavat standardit vanilliinihapolle, gallihapolle, antosyanidiiniglykosideille, rutiinille, p-hydroksibenzoehapolle, flavan-3-oleille, flavonoliglykosideille, hydroksikanelihapolle ja antosyanidiineille analysoidaan niiden maksimiabsorption aallonpituuksilla: Hydroksibenzoehapot 260 nm, hydroksikanelihapot 320 nm, ellagihapot ja flavonoliglykosidit 360 nm, antosyaanit 520 nm ja flavan-3-olit 280 nm. Dimeeriset proantosyanidiinien määrät määritetään käyttämällä epikatekiinin 280 nm vastetekijää. Gallihapon vastetta käytetään määrittämään luonnollisten ellagitanniinien määrää 280 nm. Moriinia käytetään sisäisenä standardina flavan-3-olien ja alhaisen molekyylipainon proantosyanidiinien määrittämisessä korjaustekijänä. Fenoliyhdisteiden pitoisuudet ovat summa liukenevista muodoista metanoli- ja etyyliasetatiliuoksissa sekä liukenemattomista jäänteistä uuttojäämissä, vastaavasti etanoli- ja vesiliuoksilla. Ellagitanniinit depolymeroidaan ellagiinihapoksi hapolla 20 tunnin hydrolyysissä. Liuoksen ellagitanniini pitoisuudesta vähennetään vapaiden ja sitoutuneiden ellagiinihappojen pitoisuus, johtuen näiden vaikutuksesta tulokseen. Ellagiinihapon glykosidit hajaantuvat myös ellagiinihapoksi happohydrolyysissä [125].

Mitä ilmeisimmin kaikissa menetelmissä oletetaan joidenkin tunnetumpien yhdisteiden määrät tai vaihtoehtoisesti perustetaan ne edellisiin tutkimuksiin. Esimerkiksi Ovaskainen et. al.[12] perustivat tutkimuksessaan flavonien (apigeniini ja luteoliini) sekä flavonolien (kversetiini, myrisetiini ja kämferoli) pitoisuudet Hertog et. al. [126] esittämään dataan ja isoflavonoidien sekä lignaanien määrät Mazur et. al.[127] tutkimustuloksiin.

Fenolisten yhdisteiden UV-Vis spektrin ominaisuudet alkoholiliuoksissa HPLC-DAD analyysissä on esitetty taulukossa III.

Taulukko III. UV-Vis spektriominaisuudet fenolisilla yhdisteillä alkoholissa HPLC-DAD:ssa [125]

	Maksimaalisen absorptioaallonpituus (nm)		
	aglykoni	Glykosidi	Esterit
Hydroksikanelihapot			
p-Kumaarihappo	234, 310(std);226,309	234,296	Glukoosin kanssa 236, 312 -314
Kahvihappo	240,324- 326(std),238,323		Glukoosin kanssa 244,326-330 (kiinihappo 244)
Ferulihappo	240,324-326(std)	211,284	Glukoosin kanssa 244,326-330 (kiinihappo 240)
Sinapiinihappo	236,326(std),327		Glukoosin kanssa 328, 305sh
Flavonoidit			
Myrisetiini	254-260,373(std)	254,354	
Kversetiini	254,371(std)	254,354	
Kämpferoli	265,367(std)	264,290,348	
Isoramnetiini	254,371(std)	254,354	
Delfinidiini	274,528(std)	278,524 (std)	
Syanidiini	274,524(std)	278,516(std)	
Petunidiini		278,528(std)	
Peonidiini		278,516(std)	
Malvidiini		278,528 (std)	
Pelargonidiini		276,504 (std)	
Gallokatekiini	271		
Katekiini	278(std)		

Toinen vaihtoehto on käyttää Luximon-Ramman *et. al.* [128] käyttämän metodin pohjalta luotua analyysimetodia. Kolonnina käytetään tällöin Spherisorb ODS 2 Hypersil-kolonnia, jonka mitat ovat 4,6 mm x 250 mm ja huokoskoko 5 µm. Metodissa käytetään eluenteina 1:9 (A) ja 1:1 (B) asetonitrili-milliporevesi-liuoksia virtausnopeudella 0,7 mL/min, pH:ssa 2,6 ja paineessa 90 bar. Metodi: 0–30 min, 0–15 % B:tä A:ssa; 30–50 min, 15 % B:tä A:ssa; 50–60 min, 15–25 % B:tä A:ssa; 60–90 min, 25–100 % B:tä A:ssa ja 90–100 min, 100–0 % B:tä A:ssa. Analyyseissä aallonpituus on 280 nm ja 520 nm, joista 520 nm alueella prosyaniidiinit eivät adsorboi, mutta antosyaanit adsorboivat. Analyysistandardeina voidaan käyttää samoja standardeja kuin Määttä-Riihisen metodissa ja käytettyjen puhtaiden reagenssien vesiliuoksia, jotta saatua analyysispektriä voitaisiin tulkita paremmin. Erotuksesta saatujen analyysispektrien tulkinnassa käytetään vertailupohjana kirjallisuuden tuloksia kuten edellä [128].

Analytiikan osalta on ennen itse suoritettavia analyyseja todennäköisesti vielä selvitettävä tarkemmin analyysimetodit sekä niiden tarkkuus ja toistettavuus. Lisäksi voi olla syytä kysyä

Kuopion yliopiston henkilöstöltä lisätietoa aiheeseen liittyen ja mahdollisia erikoisuuksia joita on syytä ottaa huomioon.

2.5 Kannattavuus, saatavuus ja tuotesovellukset

Marjojen saatavuus riippuu täysin kyseisen vuoden sadosta, jolloin sääolot, kukintojen aika, poimijoiden määrä, kasvuympäristö, poiminnan ajoitus ja mahdolliset taudit vaikuttavat suoraan saatavuuteen etenkin metsämarjoilla. Lisäksi fenolisten yhdisteiden ja tutkittujen terveysvaikutusten voidaan tällä hetkellä havaita olevan voimakkaasti metsämarjojen puolella, jolloin terveysvaikutteisten elintarvikkeiden valmistuksessa voidaan odottaa mahdollisesti huomattavia kausittaisia vaihteluita. Vaihteluista huolimatta metsissä kypsyvät vuosittain niin huomattava määrä marjoja, että nykyisellä keruulla tästä kerätään käyttöön vain 3-10 %. Keruuta lisäämällä sekä mahdollisia koneellisia ratkaisuja tai luontomatkailua kehittämällä voitaisiin saatavuus helposti varmistaa, vaikka olisikin huono marjavuosi. Viljelyssä voidaan suhteellisen helposti lisätä perinteisesti metsämarjojen osuutta, koska jopa lakkaa voidaan viljellä ja on vielä huomioitava, että tällä hetkellä viljeltyjä hyviä marjoja jätetään keräämättä. Esimerkiksi jopa puolet mustaherukkasadosta jää ottamatta talteen [2].

Mustaherukasta, mustikasta ja marja-aroniasta saataisiin helposti tuotettua niin antosyaani- kuin proantosyaani- ja antosyanidiinivalmisteita sekä muita tuotteita. Lisäksi näiden marjojen syönnin lisäämisellä olisi todennäköisesti myös väestöllisesti ja kansantaloudellisesti merkittävä vaikutus sairaustilastojen, lääkkeiden käytön, kroonisten sairauksien ja työelämässä jaksamisen kautta mikäli terveysvaikutukset pätevät kliinisissä kokeissa. Lisäksi keruun ollessa selkeästi työvoimapainotteinen se kasvattaisi työllisyyttä. Tämän kautta tuotannon lisäys etenkin tuoremarjoihin sekä erilaisiin marjavalmisteisiin olisi todennäköisesti kannattavaa niin kosmetiikan, kuin elintarviketekniikankin puolella. Lisäksi mahdollisten uutteiden tuotanto ja vienti kannattaisi marjojen ja valmisteiden kiinnostuksen jatkuvasti lisääntyessä Aasiassa sekä Keski-Euroopassa. Etenkin Aasian markkinat ja näiden markkinoiden kokoluokka ja periteisen lääketieteen määrä jo sinällään kannustaisivat niin pk- kuin suuriakin yrityksiä investoimaan tuotantoon.

Ongelmana keruu puolella ovat marjojen hinnat sekä poiminnasta saatavat tulot. Kun poimintaa on paljon ja marjoja on paljon markkinoilla hinnat tulevat alas ja tällöin keruusta saatavat tulot kutistuvat. Marjojen hinnat eivät puolestaan voisi kovin paljon enää nousta ihmisten valittaessa jo nykyisistä hinnoista. Toisaalta, mikäli marjavirta pysyisi lähes samana vuosittain ja marjoja tuotaisiin markkinoille paljon, voisi kauppahinnat ja siten tulot asettaa tarkemmin kohdalleen kuten

muillakin elintarvikkeilla. Nykyisin markkinoilla jo olevissa marjauutteissa sekä –jauheissa käytettyjä marjoja on esitetty taulukossa IV.

Taulukko IV. Marjauutteissa sekä – jauheissa käytettyjä marjoja [2].

Tuote	Marjat
Marjojen siemenöljyt	Metsämustikka, Karpalo, puolukka, Mansikka, Lakka, Mustaherukka, Tyrni
Marjaöljyt	Tyrni
Marjajauheet	Eri marjoista tehtyjä jauheita, joiden antosyaani/fenoolisten yhdisteiden kokonaismäärän tai ellagitanniinipitoisuus on vakioitu
Standardoidut antosyaaniuutteet (yl. 25 %)	Metsämustikka, Pensasmustikka, Mustaherukka ja Puolukka
Standardoidut ellagitanniiniuutteet (yl. 25 %)	Vadelma
Marjakuitujauhe	Metsämustikka, Pensasmustikka, Seljanmarja ja Mansikka

Tuotteiden puolella on havaittavissa, että markkinat ovat ottaneet antioksidantti-käsitteen omakseen ja alkaneet tuottaa ja markkinoida selvästi aikaisempaa enemmän antioksidanttivalmisteita. Lisäksi nyt muutamina vuosina on tullut markkinoilla sekä marjakeittoja, joiden on erikseen mainittu sisältävän luonnon flavonoideja, että erilaisia valmisteita kuten Elivon ja Möllerin mustikkauutteet ja nyt keväällä Suomen markkinoille tullut Boehringer Ingelheimin flavonoideja sisältävä viininlehtiute Antistax. Molempia näistä markkinoidaan luontaistuotteina ja myydään apteekkeissa. Antistaxin väitetään parantavan jalkojen verenkiertoa ja mustikkauutteet ovat silmien terveyteen. Kuten edellä on esitelty molemmat väitteet pitänevät ainakin jossain määrin paikkansa ja perustuvat fysikaalisiin ja kemiallisiin vaikutuksiin.

Tällä hetkellä maailmalla olevia marjojen, marjavalmistajien ja fenoliyhdisteiden uutteiden valmistajia on useissa maissa kuten USA, Kiina, Japani, Kanada ja Venäjä. Näistä Kiina ja Japani ovat tällä hetkellä ylitse muiden, Kiina valmistajana ja Japani kuluttajana. Esimerkiksi Alibaba.com sivustolla on tarjolla olevia kasviuutteita noin 500–600 erilaista, joista puolet tulee kiinalaisilta valmistajilta. Antosyaani- ja antosyanidiiniuutteita löytyy noin 70, joista puolet valmistetaan Kiinassa. Uutteita on tehty soijapavuista, mustikasta, acai-palmun hedelmistä, paikallisista marjoista, kuminasta jne. Valmistajia on antosyaaneilla ja antosyanidiineilla noin 70 ja mustikkauutetta tuottavat 27 valmistajaa Alibaba.com sivustolla. Näistä valmistajista yli puolet on Kiinasta ja sivuston pohjalta voidaan päätellä, että kiinnostusta ja markkinoita näille valmisteille on

olemassa. Taulukossa V on esitetty muutamia fenoliyhdisteiden valmistajia sekä valmistajien tuotteita.

Taulukko V. Antosyaani- ja antosyanidiinivalmisteita valmistavia yrityksiä sekä kyseisten yritysten tuotteita (alibaba.com).

Valmistaja	Tuotteet	Maa
Guangzhou Weiguan Trade Co., Ltd.	black currant anthocyanin	Kiina
	elderberry anthocyanin	Kiina
	rose hip anthocyanin	Kiina
	Blueberry Extract	Kiina
	Lingonberry Extract	Kiina
Hebei Bonherb Technology Co.,Ltd.	Bilberry extract	Kiina
Linyi Taihao International Trade Co., Ltd.	Black rice extract(cyanidin-3-glucoside)	Kiina
Aarkay Food Products Ltd	Anthocyanin Colour	Intia
Shing biotech.,Co.,Ltd	Sweetberry Anthocyanin Health food	Taiwan
Ningbo Tiangong Fazenda Fruit Juice & Fruit Wine Co., Ltd.	Mulberry Juice 50%	Kiina
UNIVERSAL HERBS INC	Berry High 300 GMS	USA
MONSIEURNONI.COM INC	BLUEBERRY	Kanada
salud ciencia consultores sociedad anonima cerrada	vidafenol (liophilized purple corn)	Kanada
Let's Get Healthy, LLC	Get Set juice	USA
YUGENGAISHA KBC	PURPLE CORN REFRESHING DRINK KBC	Japani
STARWIN INTERNATIONAL TRAVEL AND TOURS	Optiberry Plus Food Supplement	Thaimaa
Fruta Vida Org	Nutritional Juices	USA
GreenSourceOrganics	Blueberry Powder	Kanada
	Grape Powder	Kanada
	Elderberry Powder	Kanada
	Black Current Powder	Kanada
	Cranberry Powder	Kanada
	Raspberry Powder	Kanada
Qingdao Pengyuan Natural Pigment Research Institute	Purple Potato Red Color	Kiina
	Cabbage Red Color	Kiina
Tianjin Jianfeng Natural Product R&D Co., Ltd.	Black Soybean Hull Extract	Kiina
Sparlats SIA	IQF European Wild blueberries	Latvia

Taulukon V tuotteiden pohjalta voitaisiin ehdottaa valmistukseen erilaiset uutteen sekä kuivatut marjat sekä erilaiset marjamehut. On myös mahdollista valmistaa lääkemäiseen käyttöön erilaisia kapselivalmisteita kuten jo olemassa olevat antistax sekä Omega-3 ja Omega-6 valmisteet. Yhtenä mahdollisuutena voidaan pitää puristemassojen, marjojen kuorien sekä marjalihan lisäämistä leivonnaisiin sekä leipiin kuivattuina. Jauheita voidaan lisätä myös muihin tuotteisiin kuten muroihin ja puuroihin. Yhdisteiden prosessoinnin heikohko sietokyky on otettava huomioon

valmistusvaiheissa. Lisäksi siemenöljyjä kannattaa valmistaa jatkossakin ja markkinoida niitä etenkin Aasiaan ja mahdollisuuksien mukaan Eurooppaan.

Suomessakin marjatuotteiden ja -uutteiden käytölle olisi varmasti kiinnostusta, mutta ihmiset ovat unohtaneet mitä hyötyä marjoista on. Monien marjojen kohdalla muistetaan vain tietyt väittämät, kuten että mustikka parantaa näköä ja tyrni on terveellistä, mutta tätä suurempaa tietoa ei perinteisellä kansalaisella taida olla ja täten ei välttämättä ymmärretä mitä flavonoidit ja muut vastaavat tarkoittavat. Lisäksi ihmiset eivät osaa enää syödä marjatuotteita tai välttämättä ajatella niitä ja niiden etuja, vaikkakin tietyissä piireissä aihetta pidetään merkittävästi esillä. Erikoismarjat markkinoille, Suomen luontoyrittäjyysverkosto ry ja luomumarjat ovat esimerkkinä suomalaisista marjojen ja luonnon tuotteiden käytön tukijoista, jotka tuottavat tietoa ja toimivat yhteistyössä yritysten, tutkimuskeskusten ja yksityisten henkilöiden kanssa.

3 Pettu

Pettu tarkoittaa männyn nila ja jälsikerrosta, joiden koostumus vaihtelee vuodenaikojen sekä puun iäkkyyden mukaan. Männyn kuori sisältää hemiselluloosaa, selluloosaa, ligniiniä, sokereita, rasvoja, hartseja, haihtuvia öljyjä, terpeenejä ja parkkiaineita, joista hiilihydraatit esiintyvät lähinnä jälsikerroksessa kuoren ollessa hapanta (pH 3,5-5). Siirryttäessä jälsikerroksesta nilaan ja nilasta kuoreen vesiliukoisten aineiden, uronihapon, tuhkan sekä OCH₃-ryhmien määrät vähenevät kun selluloosan, hemiselluloosan sekä ligniinin pitoisuudet kasvavat. Jälsinesteessä mahdollisesti oleva ligniini on peräisin keräysvaiheessa rikkoutuneista soluista. Jälsinesteessä on lisäksi vähän rasvoja, vahoja ja hartseja 0,02 % sekä parkkinaineita 6,8 % ja fermentoituvia sokereita 58,9 % kuiva-aineesta (maanpuolustuksen tieteellinen neuvottelukunta 1979) [130]. Näistä parkkiaineiden osuutta on pyrittävä pienentämään mahdollisimman paljon, koska ne aiheuttavat myrkytyksiä. Petun aktiivisia eli vaikuttavia aineita ovat kuoren flavonoidit, koniferi-glykosidi, sokerit, D-inositoli, pinitoli, kiina- ja malonihappo. Näistä flavonoideja, kuten katekiineja ja epikatekiineja, on keskimäärin 4 g/kg pettujauhoa ja niiden pitoisuudet vaihtelevat kasvupaikkojen, sääolojen, keruuajan, kasvutekijöiden ja petun silpimisasteen (kuorinta-asteen) mukaan [130].

Petun energia sekä proteiini sisältö vaihtelevat eri vuoden aikoina. Energiaa ja hiilihydraatteja saa parhaiten syksyllä ja talvella kun puut muuttavat tärkkelystä, jota on paljon kesäkuussa vapaiksi sokereiksi kuten glukoosiksi, fruktoosiksi ja sakkaroosiksi solujen jäätyksen estämiseksi. Vapaiden sokereiden osuus kuiva-aineesta nousee 8,4–9,2 % tuntumaan. Proteiineilla, joista 60 % on sulavaa eli HCl-pepsiiniliukoista valkuaista, puolestaan pitoisuudet ovat korkeammillaan

syksyllä ja keväällä kun rasvan määrä on korkeimmillaan talvella. Pettujauhojen rasvahapot jakautuvat tyydyttyneisiin 0,2 g/100g, monityydyttymättömiin 0,2 g/100g sekä polytyydyttymättömiin 0,01 g/100g [130].

Petun ravintokuitupitoisuus laskee keväällä puun kasvukauden alkaessa ja on välillä 45–59 % kuiva-aineesta, mikä kertoo petun olevan huomattavan hyvä kuidun lähde. 100 g:ssa pettujauhoja on veteen liukenemattomia kuituja 50,9 g ja vesiliukoisia 6,5 g. Lisäksi 1 kg pettujauhoja tyydyttää ihmisen tiamiini, C-vitamiinin ja riboflaviinin päivittäisen tarpeen [130].

3.1 Petun kannattavuus, saatavuus ja käytettävyys

Teoriassa pettu voidaan kerätä ympäri vuoden, mutta käytännössä parhaat ajat ovat irrotuksen kannalta nila-aikana touko-heinäkuussa. Lisäksi on huomioitava, että pettu ei kannata kerätä alle 50 vuotta vanhoista männystä niiden vanhoja mäntyjä korkeamman parkkiaineiden pitoisuuden sekä hankalamman petun keruun takia. Männystä saadaan noin 3-3,5 kg pettua jokaista runkoa kohti, mikä vastaa noin 1 kg pettujauhoja jokaisesta männystä. Pettu saadaan koulutetuilta petsureilta, jotka kaatavat puut, irrottavat pettuliinat joko ennen tai jälkeen silpimisen ja kuivaavat silpimisen jälkeiset liinat ulkoilmassa. Silpimisessä kuoren virhreä- ja ruskeakuorikerros poistetaan pettuliinoista. Petun keruussa ja mahdollisessa viljelyssä on ennen muuta huomioitava elintarviketekniset vaatimukset kuten työvaatteiden ja varusteiden puhtaus, moottorisahoissa käytetyt öljyt (rypsiöljyä), lannoitteiden koostumukset ja käyttö sekä kemikaalien käyttö, jota ei saa olla keruuta edeltävänä kolmena vuotena kyseisessä metsikössä. Kuoritut rungot menevät sahoille, paperiteollisuuteen tai hirsiksi rakennuksille [130].

Pettua voidaan juuri kaadettujen puiden ohella kerätä esimerkiksi puunjalostusteollisuuden sivutuotteena tulevasta kuorimateriaalista kuten Kuusamon nilapuu-tuotannosta syntyvästä sivuvirrasta. Kyseinen materiaali sopii, koska irrotus toteutetaan ilman kemikaaleja paineistetulla vedellä ja vähällä höyryllä. Raaka-ainevirtana määrä on kuitenkin melko vähäinen noin 1 m³/kuorintapäivä [130].

Petun esikäsittelyssä paahtamalla ja keittämällä pyritään poistamaan haitallisia aineita kuten parkkiaineita, hartseja, vahoja, terpeenejä ym. Haitallisten aineiden pitoisuuksiin voidaan vaikuttaa myös petun keruuaajan sekä puiden iän kautta. Esikäsittelytavoista paahtamisessa uunissa, hiilien päällä tai liekin loisteessa liinoista sekä haihtuu, että niiden pinnalle kertyy haitallisia aineita, jotka voidaan raaputtaa pois. Keittämisessä liinoja keitetään 2–3 tuntia, jolloin veteen liukenee sekä

haitallisia, että joitakin hyödyllisiäkin aineita kuten flavonoideja. On olemassa tekniikka nimeltä RCM, jossa paahtamisella, murskauksella ja jauhamisella saadaan tasalaatuista puhdasta jauhoa [130].

Varastoinnissa kuivatut pettuliinat säilyvät hyvin riippuen varasto-olosuhteista. Varastointi tapahtuu tiloihin joiden on oltava kuivat ilman ollessa 20 °C, koska tällöin pettu säilyttää ravintoarvonsa jopa vuosia. Mikäli tilojen kosteus lisääntyy, menevät pettuliinat melko nopeasti piloille. Varastointi tapahtuu petulle liinoina, koska jauhettua tuotetta tehdään vain tarpeen mukaan ja se säilyy huomattavasti paremmin kuin kuivat liinat. Lisäksi on mahdollista tehdä proantosyanidiinipitoista uutetta joko liuoksena tai kuivattuna jauheena uuttamalla proantosyanidiineja kuorimateriaalista kuumalla vedellä [130].

Jauhoissa saa olla enintään 25 paino-% pettujauhoja, jotta vältetään aiemmin historiassa tapahtuneet myrkytykset päivittäisessä käytössä [130]. Petun käytön "uudelleensyntyyn" on vaikuttanut erityisesti Ranuan pettuprojekti. Nyt pettu kuitenkin tekee uutta tuloaan funktionaalisenä elintarvikkeena, jolla on tutkimusten mukaan suotuisa vaikutus kolesterolitasoon (kliiniset tutkimukset olemassa ja päteviä). Petun flavonoidien oletetaan myös suojaavat sydän- ja verisuonitaudeilta sekä syövältä [131], mutta tästä ei ole kunnon kliinistä tietoa olemassa. Pettu on kerätty luomumänniköistä tähän asti käsin, noin 10 000 kg vuodessa. Petun keruu on verovapaata tuloa. Kuivatusta ja jauhetusta petusta on tehty mm. pettuleipää, -sinappia ja -makkaraa. Lisäksi suomalaista pettujauhoa viedään Keski-Eurooppaan. Petun myynnin odotetaan voimakkaasti lisääntyvän ja markkinoiden avautuvan laajemmalle, kun uutta tutkimustietoa petun vaikutuksista saadaan julkisuuteen. Tutkimuksia ovat tehneet Jyväskylän ja Kuopion yliopistot sekä MTT Jokioisilla, joiden lisäksi vaikutuksia tutkitaan myös muualla Euroopassa. Yli 300 petsuria on koulutettu hankkimaan raaka-ainetta, ja heistä toista sataa kerää pettua merkittävässä määrin. Kokonaismäärältään pettua voidaan tämän kokoisella työvoimalla saada vuodessa vähintään 15 tonnia pettuliinoja. Petun keräämisen koneellistamista on jarruttanut käsin tehtävälle työlle toistaiseksi myönnetty verovapaus. Petun työllistävyys vuotta kohti on nykyisin raaka-aineen hankinnassa ja jalostuksessa n. 30 henkilötyövuotta [131].

Ranualla perustettu Finnpettu-osuuskunta [132] omistaa oikeudet Vitabark- ja Finnpettu-tavaramerkkeihin sekä ottaa vastaan pettua vain luomumänniköistä. Osuuskuntaan kuului vuonna 1999 130 osakasta eripuolilla Suomea ennen kuin Finnpettu Oy perustettiin. Osuuskunta myös kouluttaa petsureita ja opastaa petun ominaisuuksiin sekä käyttöön [132,131].

Finnpettuosuuskunnan markkinointi- ja viestintäpäällikkönä toimii Anne Arstila (p. 0400 733 413), osuuskunnanpuheenjohtajana toimii Kalevi Haarahiltunen (myynti p. 0400 180 327) ja Ranuan projektin päällikkönä toimi Lauri Tauno (Ranuan kunta, p. 016 355 9111), jolta voi tiedustella lisätietoja. Osuuskuntaan on mahdollista liittyä maksamalla noin 1000 euron liittymismaksu sekä noin 350 euron arvoinen osuusmaksu [132]. Finnpettu-osuuskunnan lisäksi vastaavaa toimintaa on myös Pesiökylän Osuuskunnalla, jonka yhteyshenkilönä toimii Mikko Kulmala (p. 08 728 198, 0400 239 344). Lisätietoja sekä yhteystyökumppaneita voi tiedustella myös luontoyrittäjyysverkostosta (Suomen luontoyrittäjyysverkosto ry, Kampusranta 9C 60320, Seinäjoki), jonka puheenjohtajana toimii Katri Kranni (p. 050 310 4340, katri.kranni@vilmankammen.fi), yhdistyksensihteerinä Juha Rutanen (p. 040 573 7568, f. 06 414 1504, juha.rutanen@helsinki.fi) ja jäsenpalvelusihteerinä Sari Laitila (p. 050 512 2033, sari.laitila@helsinki.fi). Yhteydenotot ilmeisesti Rutaseen, mutta muitakin voi kysellä. Ravintorengas Oy (Siikainen) valmistaa havupuu-uutejuomaa ja kuivattua jauhetta antioksidatiiviseksi ravintolisäksi. Valmistusaineina käytetään suomalaista männyn nilaa sekä kuorta [130].

Toiminta on mitä ilmeisimmin kannattavaa ja toimijoita pyritään samaan lisää eri alueilta. Suomalaisessa leivässä petun käyttö voi olla edelleen ongelmallista johtuen historiasta ja siitä kuvasta joka on sekä vanhemmilla, että nuoremmilla sukupolvilla. Nuoremmilla sukupolvilla kuva syntyy tarinoista sekä historian tunneilla. Tästä huolimatta käyttö lisääntyy ja Keski-Eurooppa vaikuttaisi huomattavan kiinnostuneelta petusta sekä siitä saatavista jatkojalosteista esimerkiksi lääketieteelliset sovellukset. Ranskassa, Saksassa sekä muissa maissa on ollut kiinnostusta joko tutkia mahdollisuuksia tai ottaa joitain tuotteita jopa myyntiin. Jatkossa tällä saralla olisi tarpeen tutkia Keski-Euroopan markkinoiden kiinnostusta, saatavuuden lisäämistä sekä ihmisten asenteita ja tottumuksia kyseisten tuotteiden osalta niin Pohjoismaissa kuin Venäjällä, joissa petusta on sota- ja katoajoilta ”huonoja” muistoja.

4 Yhteenveto

Selvitys on osana Uusiutuva metsäteollisuus -osaamisklusterin metsäkemikaalit ja uudet tuotteet metsästä osakokonaisuutta ja hankevalmistelua. Työn tavoitteena on tarkastella Suomen metsäbiomassaa ja metsä- sekä elintarviketeollisuuden sivuvirtoja mahdollisten uusien ja/tai korvaavien tuotesovellusten löytämiseksi mm. kemian- ja elintarviketeollisuuden käyttöön. Selvityksen pääpaino oli marjojen ja marjoihin liittyvien hankeaihioiden eteenpäin vieminen

kokoamalla yhteen Suomessa ja ulkomailla tehdyistä tieteellisistä julkaisuista ja selvityksistä tietoa Uusiutuva metsäteollisuus -osaamiskeskuskusterin sekä Kokkolan seudun osaamiskeskuksen käyttöön.

Sekä potentiaaliselta käytöltään kuin terveysvaikutuksiltaan marjoissa on huomattavasti potentiaalia. Marjasadot ovat Suomessa etenkin metsämarjojen osalta merkittävät ja suuri osa vuotuisesta sadosta jää metsiin johtuen jatkuvasta poimijapulasta sekä keruun hankaluudesta tietyillä metsäalueilla. Lisäksi joidenkin viljeltyjen marjojen kuten esimerkiksi mustaherukan sadosta voi jäädä jopa puolet keräämättä ja kyseisen marjan kuten joidenkin muidenkin viljelypinta-ala on vähentynyt viime vuosina. Toisaalta taas esimerkiksi tyrnin viljely on jatkuvasti lisääntynyt. Mikäli metsämarjojen keruuta ei voida tai ihmisistä riippuen haluta lisätä niin kaikkia Suomen marjoja jopa lakkoja voidaan viljellä ja niiden viljelystä on tutkimustietoa olemassa. Lisäksi keruuta voisi mahdollisesti pyrkiä koneistamaan, mutta koneistamiseen liittyy useita ongelmia niin keruuympäristön puolesta kuin puhtasvalmisteiden ja elintarvikkeiden näkökulmasta. Huomattavaa on myös, että marjojen poiminta on verovapaata tuloa ja myös tämä estää jonkin verran koneistamista.

Marjat omaavat sekä merkittäviä todistettuja terveysvaikutuksia, että huomattavaa potentiaalia eri yhteyksissä aina verisuotaudeista diabetekseen *in vitro*- sekä eläintutkimusten perusteella. Valitettavasti ihmisillä suoritettuja tutkimuksia on eri marjoilla joko huomattavan vähän tai ei ollenkaan. Tutkituimmat marjat ovat mustikka, tyrni sekä mustaherukka, joiden lisäksi karpaloa on tutkittu todella paljon virtsatieinfektioiden yhteydessä. Mustikalla, mustaherukalla ja marja-aronialla on havaittu olevan jossakin määrin vastaavanlaisia vaikutuksia. Näistä marjoista on mustikasta tiedetty silmien terveyteen kohdistuvat vaikutukset, joita on myös selvästi mustaherukalla, jonka teho voi olla jopa mustikkaa parempi. Kaikilla kolmella on anti-inflammatorisia vaikutuksia *in vitro* ja kaikki kolme vaikuttavat myös verenkiertoelimistöön alentaen verenpainetta ja parantaen verisuoniston kuntoa sekä rentouttaen suonien seinämiä. Antiadheesio- ja antimikrobisia ominaisuuksia suolistobakteereille näillä marjoilla on löydetty jonkin verran *in vitro* sekä eläintutkimuksissa. Marja-aronian sekä mustikan voidaan anti-inflammatoristen vaikutustensa takia luokitella myös diabetekseen auttaviksi marjoiksi. Mustikka sekä marja-aronia myös alentavat jossain määrin kolesterolia verestä, mutta tämä vaikutus on todistettu vasta *in vitro* ja eläinkokeissa. Kliinisissä kokeissa ei ole varmaa näyttöä vielä olemassa. Variksenmarja vaikuttaa jossain määrin samanlaiselta mustikan, mustaherukan sekä marja-aronian

kanssa. Sen koostumus eroaa mainituista marjoista jonkin verran, mutta sen on myös osoitettu olevan hyvä C-vitamiinilähde sekä sisältävän runsaasti antosyaaneja. Näin ollen se on toimii hyvänä antioksidanttien lähteenä.

Lakalla ja puolukalla on huomattavaa näyttöä niin syövän kuin eri suolistobakteerien nujertajina *in vitro*. Antimikrobisilta ominaisuuksiltaan lakka vaikuttaisi tehokkaimmalta kaikkien suolistopatogeenien suhteen. Syöpään liittyen lakka ja puolukka vähensivät selvästi kasvaintaakkaa ja kasvain kokoa sekä pahanlaatuisiin kasvaimiin liittyvien proteiinien määriä. Puolukalla voidaan lisäksi olettaa olevan jonkin verran karpalon kanssa samanlaisia vaikutuksia virtsatien tulehdukseen. Ruusunmarjaa pitäisi puolukan lisäksi tutkia enemmän, koska se sisältää marjoista toiseksi eniten polyfenoleita ja samalla sisältää eniten C-vitamiinia. Näin ollen sen antioksidanttikapasiteetti on huikea verrattuna muihin marjoihin ja tuotteisiin. Tämän lisäksi ruusunmarjasta voisi olla muutakin hyötyä, kunhan sen vaikutuksia tutkittaisiin hieman lisää. Marjavalmisteita voidaan käyttää elintarvikkeiden ja lääkemäisten valmisteiden lisäksi kosmetiikkaan C-vitamiini- sekä antioksidanttilähteinä ja lisäksi erikoisempien ominaisuuksien ansiosta, esimerkiksi tyrni nopeuttaa ihohaavojen paranemista sekä parantaa ihon uusimista, valmisteista voi olla myös muuta hyötyä. Kosmetiikkaan ja luontaistuotteisiin käytetään maailmalla (Italia ja Ranska) Suomesta tuotua mustikkaa, josta tehdään antosyaanivalmisteita juuri näihin tarkoituksiin.

Täten jalostaminen arvokkaammiksi tuotteiksi olisi kiinnostavaa ja todennäköisesti kannattavaa sekä lisäksi osin ilman tieteellistä näyttöä voidaan sanoa marjojen hyödyn olevan merkittäviä siltä pohjalta, että väestöryhmissä joissa on suuri marjojen kulutus, tavataan huomattavasti vähemmän astmaa, diabetesta, reumaa ja muita kroonisia sairauksia. Kyseisillä väestöryhmillä on myös muita vähemmän iän aiheuttamia kudosten rappeutumia sekä sairauksia. Marjojen yhdisteiden pitoisuudet kuitenkin jäävät EU:n määrittämästä pitoisuusrajasta elintarvikkeiden merkintää varten, minkä johdosta marjoihin liittyen ei voida käyttää ravitsemusväitteitä, mutta konsentraattien kohdalla ravitsemusväitteet ovat sallittuja. Marjojen terveysvaikutuksiin liittyen olisi jatkon kannalta suoritettava tutkimuksia ihmisillä, jotta voidaan seuloa ihmisillä toimivat vaikutukset ja mahdollisesti löytää vastaavat aktiiviset fenoliyhdisteet jalostusta varten. Lisäksi marja-aroniaa, lakkaa, puolukkaa sekä ruusunmarjaa pitäisi tutkia yleisesti enemmän ja erityisesti selvittää tarkemmin lakalla, puolukalla ja marja-aronialla havaittuja vaikutuksia diabetekseen ja syöpään.

Marjojen jalostaminen on Suomessa mahdollista, koska tekniikat sekä prosessit ovat tunnettuja ja on olemassa erinäisiä valmiita simulointityökaluja tehdassuunnittelua silmälläpitäen. Jalostus vaatii kokeelliset tutkimukset sekä simuloinnin niin optimoimisen kuin prosessisuunnittelunkin kannalta ja olennaiset osat fenolisten uutteiden valmistuksessa ovat marjan pektiinien entsyymikäsittely, uutto alkoholilla tai vedellä, suodatus, adsorptioerotus alkoholin ja veden avulla sekä tuotteen kuivaus. Näistä vaiheista kriittisin on adsorptioerotus, jonka kohdalla on huomioitava parametreja tuottavuuteen, kapasiteettiin, eluenteihin ja adsorptio-materiaaliin liittyen. Adsorptio tapahtuu yleisimmin kolonneissa, joissa täytemateriaalina toimii makrohuokoinen hartsi (XAD 16, SP-207). Saannoiksi voidaan jalostuksessa saada jopa 80 % antosyaaneista uuton ja adsorption osalta, mutta yleensä oletetaan saantojen olevan noin 70 %. Puristekakkua voidaan käyttää moniin tarkoituksiin, kuten fermentoida alkoholeiksi, jauhaa soseeksi, uuttaa jauheesta erikseen fenoliyhdisteitä, siemenistä valmistaa öljyä ja kakusta voidaan myös tehdä korkea kuitupitoista tuotetta joko bioprosesseihin tai elintarvikevalmisteisiin. Kaikki yksikköoperaatiot ovat kokeellisesti ja simuloimalla optimoitava tehdassuunnittelua varten ja analytiikka on tehdaskäyttöön standardoitava ja sen toistettavuus on varmistettava. Analytiikassa suoritetaan erotus silica-kolonnilla HPLC:ssa ja seurataan saatuja retentioaikoja yhdisteille niiden tunnistamiseksi ja pitoisuuksien määrittämiseksi standardikäyristä. Valmistusmenetelmät ovat käytettävissä niin elintarvike-, lääke-, kuin kosmetiikkateollisuuden tuotannossa.

Pettua voidaan Suomessa saada tällä hetkellä 15 000 kg/vuosi koulutettujen petsurien toimesta ja on todistettu kliinisillä kokeilla petun yhdisteiden alentavan koehenkilöiden verenpainetta sekä kohentavan yleistä terveyden tilaa. Pettujauhojen valmistukseen on olemassa toimiva RCM-prosessi ja toimijoina alalla on sekä Finnpettu-, että Pesiökylän osuuskunnat, joiden lisäksi osin pettuun liittyvää toimintaa järjestävät muutamat luontomatkailuyritykset. Lisäksi luontoyrittäjyysverkostosta voi tiedustella yhteistyökumppaneita ja lisätietoja. Petun käytön kannattavuus riippuu siitä miten paljon ja minkälaista pettua saadaan kerättyä sekä siitä miten tuote markkinoidaan ja ottaako kuluttaja tuotteen omakseen. Kannattavuuslaskelmia ei ole vielä tehty, koska ei ole varmuutta onko kiinnostusta teolliseen valmistukseen ja täten kannattavuus pitäisi laskea prosessille vai onko kiinnostus vain pettujauhojen hankintaan, jolloin kannattavuus pitäisi määrittää eri jauhoille ja leiville. Keski-Euroopassa sekä joissakin osissa pohjoismaita ja Venäjää petun kysynnän ennustetaan kasvavan.

5 Jatkotoimenpiteitä

Jatkotoimenpiteiksi voitaisiin ehdottaa marjojen terveysvaikutusten selvitystä ihmisillä ja aktiivisten aineiden sekä mahdollisten synergioiden määrittämistä jo olemassa olevissa projekteissa sekä niiden lisäksi tutkimalla lisää puolukkaa, lakkaa ja marja-aroniaa niiden vaikutusten selvittämiseksi niin *in vitro*-, eläin- kuin ihmistutkimuksissa. Meneillään olevia kliinisiä tutkimuksia on olemassa VTT:llä ja Kuopion yliopistolla, joiden lisäksi muissa yliopistoissa olisi mahdollista ottaa tutkimuksen kohteiksi niin kliiniset kokeet marjoilla kuin edellä mainitut marjat sekä lisätä Kuopion ja VTT:n tutkimusta alueella. Marjojen saatavuuden osalta olisi tutkittava mahdollisuus poimijoiden lisäämiseen sekä mahdollinen poiminnan liittäminen luonto- sekä elämysmatkailuun. Tätä tutkimusta ja pohdintaa voidaan tehdä useissakin paikoissa kuten esimerkiksi luontoyrittäjyysverkostossa sekä eri tutkimustahojen toimialoilla. Laajamittaisemman keruun järjestämisessä olisi tarpeen myös selvittää hyvät kasvupaikat sekä suurien hehtaarisatojen alueet Suomen luonnossa, mikäli eivät ole jo tiedossa.

Uuton ja adsorption kokeelliset tutkimukset, simulointi ja optimoinnit on ehdotettu Sitran raportissa toteutettavaksi yritysten, VTT:n, Lappeenrannan teknillisen yliopiston ja muiden tutkimustahojen kanssa. Tähän pakettiin Ketek voisi pyrkiä mukaan hyvän laitekannan, tilojen, yhteistyötahojen sekä osaamisen ansiosta. Myös toiminta yhdessä esimerkiksi LTY:n erotustekniikan laboratorion, Finex Oy:n ja mahdollisesti Rinteknon kanssa on mahdollista tutkittaessa adsorptioerotusta. Lisäksi Ketek voisi tarjota analytiikan, metodin toistettavuuden ja luotettavuuden testausta sekä analyysipalveluja yleisesti marjojen fenolisiin yhdisteisiin liittyen.

Petusta on huomattavasti tuotannon aloittamiseen kannustavaa aineistoa ja täten tarvittaisiin vain tarkempaa tietoa kannattavuuslaskelmien osalta onko kyseessä koko prosessi vai vain eri jauhojen ym. vertailu. Lisäksi olisi selvitettävä ihmisten mielipiteitä aiheeseen liittyen. Jatkossa voidaan Ketek:ssä suorittaa petulle investointi- ja käyttökustannuslaskelmat tarkemman määrittelyn jälkeen, arvioida mahdolliset kuluttajahinnat sekä tutkia markkinoita ja markkinointia tarkemmin.

6 Viitteet

1. Andersson M., Metsäbioraaka-aineet, Info-OSKE –selvitys 5.3.2007.
2. Roininen K., Mokkila M., *Selvitys marjojen ja marjasivuvirtojen hyödyntämispotentiaalista Suomessa*, SITRA:n julkaisu yhteistyössä VTT:n kanssa. Raportin numero VTT-R-00971-07.

3. Pirinen H., Lakan *markkinoiden nykytila ja tulevaisuuden mahdollisuuksia*, Kainuun maaseutukeskus ry, Kajaani, www.kainuumk.fi, 15.4.2009.
4. Marjojen ja sienten kauppaantulomäärät vuonna 2005, Tike, www.mmmtike.fi, 14.4.2009.
5. Puutarhatuotanto 2005, Tike, www.mmmtike.fi, 14.4.2009.
http://www.mmmtike.fi/fi/index/tiedotteet/2006/060620_puutarhayritysrekisteri.html
6. Review of the sector of soft fruits and cherries intended for processing in the EU, Commission staff working document. Brussels: Commission of the European communities, 2006.
7. Peusa J., Piilo T., Marjat ja hedelmät prosessissa-opas, www.foodcenter.helsinki.fi.
8. Tietoa puutarhakasveista, www.puutarha.net, 14.4.2009.
9. Puutarhayritysrekisteri 2005, Tike, 14.4.2009.
10. Kansallinen Fineli-koostumustietokanta, www.fineli.fi.
11. Puupponen-Pimiä R., Nohynek L., Alakoimi H.-L., Oksman-Caldentey K.-M., *Bioactive berry compounds – novel tools against human pathogens*, Mini-review, Applied microbiological Biotechnology, **67**, s. 8-18, 2005.
12. Ovaskainen M-L., Törrönen R., Koponen J. M., Sinkko H., Hellström J., Reinivuo H., Mattila P., *Dietary intake and major food sources of polyphenols in finnish adults*, The Journal of Nutrition, **138**, s. 562-566, 2007.
13. Koponen J.M., Happonen A.M., Mattila P.H., Törrönen A.R., Contents of anthocyanins and ellagitannins in selected foods consumed in Finland. *J Agric Food Chem*, **55**, s. 1612-1619, 2007.
14. Törrönen R., Sarkkinen E., Karvonen H., Tapola N., *Yhteenveto tieteellisestä näytöstä koskien mustikan, karpalon ja puolukan ravitsemus- ja terveysvaikutuksi*, SITRA:n julkaisu yhteistyössä Foodfiles ja Kuopion yliopiston kanssa.
15. Törrönen R., Sarkkinen E., Niskanen T., *Yhteenveto tieteellisestä näytöstä koskien tyrnin, lakan, mustaherukan ja variksenmarjan ravitsemus- ja terveysvaikutuksia*, SITRA:n julkaisu yhteistyössä Foodfiles ja Kuopion yliopiston kanssa.
16. Erdman J. W., Balentine D., Arab L., Beecher G., Dwyer J.T., Folts J., *Flavonoids and heart health: Proceedings of the ILSI North America Flavonoids Workshop May 31-June 1 2005*, Journal of nutrition, **137**, s. 718-737, 2007.
17. Manach C., Williamson G., Morand C., Scalbert A., Rémésy C., *Bioavailability and bioefficacy of polyphenols in humans. I. review of 97 bioavailability study*, American journal of clinical nutrition, **81**, s. 230-242, 2005.
18. Cheynier V., *Polyphenols in foods are more complex than often thought*, American journal of clinical nutrition, **81**, s. 223-229, 2005.

19. Halvorsen B.L., Holte K., Myhrstad M.C., *A systematic screening of total antioxidants in dietary plants*, Journal of nutrition, **132**, s. 461-471, 2002.
20. Riihinen K., Jaakkola L., Kärenlampi S., Hohtola A., *Organ-specific distribution of phenolic compounds in bilberry (vaccinium myrtillus) and northblue blueberry (vaccinium corymbosum x V. angustifolium)*, Food chemistry, **110**, s. 156-160, 2008.
21. Schmidt B.M., Howell A.B., McEniry B., *Effective separation of potent antiproliferation and antiadhesion components from wild blueberry fruits*, Journal of food chemistry, **52**, s. 6433-6442, 2004.
22. Lietti A., Cristoni A., Picci M., *Studies on Vaccinium myrtillus anthocyanosides. I Vasoprotective and anti-inflammatory activity*, Arzneimittelforschung, **26**, s. 829-832, 1976.
23. Torri E., Lemos M., Caliarì V., Kassuya C.A., Bastos J.K., Andrade S.F., *Anti-inflammatory and antinociceptive properties of blueberry extract (Vaccinium corymbosum)*, Journal of pharmaceutical pharmacology, **59**, s. 591-596, 2007.
24. Puupponen-Pimiä R., Nohynek L., Meier C., Kähkönen M., Heinonen M., Hopia A., Oksman-Caldentey K-M., *Antimicrobial properties of phenolic compounds from berries*, Journal of applied microbiology, **90**, s. 494-507, 2001.
25. Puupponen-Pimiä R., Nohynek L., Hartmann-Schmidlin S., Kähkönen M., Heinonen M., Määttä-Riihinen K., Oksman-Caldentey K-M., *Berry phenolics selectively inhibit the growth of intestinal pathogens*, Journal of applied microbiology, **98**, s. 991-1000, 2005a.
26. Puupponen-Pimiä R., Nohynek L., Alakomi H-L., Oksman-Caldentey K-M., *The action of berry phenolics against human intestinal pathogens*, Biofactors, **23**, s. 243-251, 2005c.
27. Nohynek L.J., Alakomi H-L., Kähkönen M.P., Heinonen M., Helander I.M., Oksman-Caldentey K-M., Puupponen-Pimiä R.H., *Berry phenolics: antimicrobial properties and mechanisms of action against severe human pathogens*, Nutrition and cancer, **54**, s. 18-32, 2006.
28. Mertz-Nielsen A., Munck L.K., Bukhave K., Rask-Madsen J., *A Natural flavonoid, IsB 1027, increases gastric luminal release of prostaglandin E2 in healthy subjects*, Italian Journal of Gastroenterology, **22**, s. 288-290, 1990.
29. Passamonti S., Vrhovsek U., Vanzo A., Besson C., Gil-Izquierdo A., Lamaison J.L., Remesy C., *Anthocyanin metabolism in rats and their distribution to digestive area, kidney and brain*, Journal of agricultural food chemistry, **53**, s. 3902-3908, 2005.
30. Andres-Lacueva C., Shukitt-Hale B., Galli R.L., Jauregui O., Lamuela-Raventos R.M., Joseph J.A., *Anthocyanins in aged blueberry-fed rats are found centrally and may enhance memory*, Nutritional neuroscience, **8**, s. 111-120, 2005 (abst).

31. Joseph J.A., Shukitt-Hale B., Casadesus G., Fisher D., *Oxidative stress and inflammation in brain aging: nutritional considerations*, *Neurochemical research*, **30**, s. 927-935, 2005a.
32. Joseph J.A., Shukitt-Hale B., Casadesus G., Reversing the deleterious effects of aging on neuronal communication and behavior: beneficial properties of fruit polyphenolic compounds, *American journal of clinical nutrition*, **81**, s. 313-316, 2005b.
33. Lau F.C., Shukitt-Hale B., Joseph J.A., The beneficial effects of fruit polyphenols on brain aging, *Neurobiological ageing*, **26S**, s. 128-123, 2005.
34. Joseph J.A., Denisova N.A., Arendash G., Gordon M., Diamond D., Shukitt-Hale B., Morgan D., *Blueberry supplementation enhances signaling and prevents behavioral deficits in an alzheimer disease model*, *Nutritional neuroscience*, **6**, 153-162, 2003.
35. Fursova AZh., Gesarevich O.G., Gonchar A.M., Trofimova N.A., Kolosova N.G., *Dietary supplementation with bilberry extracts prevents macular degeneration and cataracts in senesce-accelerated OXYS rats*, *Advanced Gerontology*, **16**, s. 76-79, 2005.
36. Morazzoni P., Bombardelli E., *Vaccinum myrtillus L.*, *Fitoterapia*, **67**, s. 3-29, 1996.
37. Head K., *Natural therapies for ocular disorders part two: Cataracts and glaucoma*, *Alternative medicine Research*, **6**, s. 141-166, 2001.
38. Monograph. *Vaccinum Myrtillus (bilberry)*, *Alternative medicine review*, **6**, s. 500-504, 2001.
39. Nakaishi H. Matsumoto H., Tominaga S., Hirayama M., *Effect of black currant anthocyanoside intake on dark adaptation and VDT work induced transient refractive alteration in healthy humans*, *Alternative medicine Research*, **5**, s. 553-562, 2000.
40. Cohen-Boulakia F., Valensi P.E., Boulahdour H., ym., *In vivo sequential study of skeletal muscle capillary permeability in diabetic rats: effect of anthocyanocides*, *Metabolism*, **49**, s. 880-885, 2000.
41. Bell D.R., Gochenaur K., *Direct vasoactive properties of anthocyanin-rich extracts*, *Journal of applied physiology*, **100**, s. 1164-1170, 2006.
42. Youdim K.A., McDonald J., Kalt W., Joseph J.A., *Potential role of dietary flavonoids in reducing microvascular endothelium vulnerability to oxidative and inflammatory insults*, *Journal of nutritional biochemistry*, **13**, 282-288, 2002.
43. Morazzoni P., Magistretti M.J., *Activity of Myrtocyan, an anthocyanoside complex from vaccinum myrtillus, on platelet aggregation and adhesiveness*, *Fitoterapia*, **67**, s. 13-21, 1990.
44. Bodet C., Chandad F., Grenier D., *Anti-inflammatory activity of high-molecular-weight cranberry fraction on macrophages stimulated by lipopolysaccharides from periodontopathogens*, *Journal of Dental research*, **85**, s. 235-239, 2006.

45. Duthie G.G., Kyle J.A., Jenkinson A.M., Duthie S.J., Baxter G.J., Paterson J.R., *Increased salicylate concentrations in urine of human volunteers after consumption of cranberry juice*, Journal of agricultural food chemistry, **53**, 2897-2900, 2005.
46. Zhang L., Ma J., Pan K., Go V.L., Chen J., You W.C., *Efficacy of cranberry juice on helicobacter pylori infection: a double blind, randomized placebo-controlled trial*, Helicobacter, **10**, s. 139-145, 2005 (abst).
47. Chu Y.F., Liu R.H., *Cranberries inhibit oxidation and induce LDL receptor expression in hepatocytes*, Life science, **77**, 1892-1901, 2005.
48. Valentova K., Stejskal D., Bednar P., Vostalova J., Cihalik C., Vecerova R., Koukalova D., Kolar M., Reichenbach R., Sknouril L., Ulrichova J., Simanek V., *Biosafety, antioxidant status, and metabolites in urine after consumption of dried cranberry juice in healthy women: a pilot double blind placebo-controlled trial*, Journal of Agricultural and Food chemistry, **55**, 3217-3224, 2007.
49. Duthie S.J., Jenkinson A.M., Crozier A., Mullen W., Pirie L., Kyle J., Yap S.L., Christen P., Duthie G.G., *The effects of cranberry juice consumption on antioxidant status and biomarkers relating to heart disease and cancer in healthy human volunteers*, European Journal of nutrition, **45**, s. 113-122, 2006.
50. Ruel G, Pomerleau S., Couture P., Lamarche B., Couillard C., *Changes in plasma antioxidant capacity and oxidized low density lipoprotein levels in men after short-term cranberry juice consumption*, Metabolism, **54**, s. 405-408, 2000.
51. Pedersen C.B., Kyle J., Jenkinson A.M., Gardner P.R., McPhail D.B., Duthie G.G., *Effects of blueberry and cranberry juice consumption on the plasma antioxidant capacity of healthy female volunteers*, European Journal of clinical nutrition, **54**, s. 405-408, 2000.
52. Steinberg D., Feldman M., Ofek I., Weiss E.I., *Effect of a high-molecular-weight component of cranberry on constituents of dental biofilm*, Journal of antimicrobial Chemotherapy, **54**, s. 86-89, 2004.
53. Steinberg D., Feldman M., Ofek I., Weiss E.I., *Cranberry high molecular weight constituents promote Streptococcus sobrinus desorption from artificial biofilm*, The International Journal of Antimicrobial Agents, **25**, s. 247-251, 2005.
54. Kontiokari T., Salo J., Eerola E., Uhari M., *Cranberry juice and bacterial colonization in children – A placebo-controlled randomized trial*, Clinical nutrition, **24**, s. 1065-1072, 2005.
55. Zafriri D., Ofek I., Adar R., Pocino M., Sharon N., *Inhibitory activity of cranberry juice on adherence of type 1 and type P fimbriated E.coli to eukaryotic cells*, Antimicrobial agents and chemotherapy, **33**, s. 9298, 1989.
56. Foo L.Y., Lu Y., Howell A.B., Vorsa N., *Atype proanthocyanidin trimers from cranberry that inhibit adherence of uropathogenic P frimbriated E.coli*, Journal of natural products, **63**, s. 1225-1228, 2000.

57. Lowe F.C., Fagelman E., *Cranberry juice and urinary tract infections: what is this evidence?*, *Urology*, **57**, s. 407-413, 2001.
58. Howell A.B., Reed J.D., Krueger C.G., Winterbottom R., Cunningham D.G., Leahy M., *Cranberry juice and adhesion of antibiotic-resistant uropathogens*, *JAMA*, **287**, s. 3082-3083, 2002.
59. Kontiokari T., Laitinen J., Järvi L., Pokka T., Sundqvist K., Uhari M., *Dietary factors protecting women from urinary tract infections*, *American journal of clinical nutrition*, **77**, s. 600-604, 2003.
60. Di Martino P., Agniel R., David K., Templer C., Gaillard J.L., Denys P., Botto H., *Reduction of E.coli adherence to uroepithelial bladder cells after consumption of cranberry juice: a double-blind randomized placebo-controlled cross-over trial*, *World journal of urology*, **24**, s. 21-27, 2006
61. Greenberg J.A., Newman S.J., Howell A.B., *Consumption of sweetened dried cranberries versus unsweetened raising for inhibition of uropathogenic E.coli adhesion in human urine: A pilot study*, *Journal of alternative complementary medicine*, **11**, s. 875-878, 2005.
62. Stothers L., *A randomized trial to evaluate effectiveness and cost effectiveness of naturopathic cranberry products as prophylaxis against urinary tract infection in women*, *Canadian journal of urology*, **9**, s. 1558-1562, 2002.
63. Li Z., Seeram N.P., Carpenter C.L., Thames G., Minutti C., Bowerman S., *Cranberry does not affect prothrombin time in male subjects on warfarin*, *Journal of American diet association*, **106**, s. 2057-2061, 2006.
64. Lynch D.M., *Cranberry for prevention of urinary track infection*, *American family physician*, **70**, s. 2175-2177, 2004.
65. Annuk H., Hirmo S., Turi E., Mikelsaar M., Arak E., Wadstrom T., *Effect on cell surface hydrophobicity and susceptibility of helicobacter pylori to medicinal plant extracts*, *FEMS Microbiology Letters*, **172**, s. 41-45, 1999.
66. Lichtenhäler R., Marx F., *Total oxidant scavenging capacities of common European fruit and vegetable juices*, *Journal of agriculture and food chemistry*, **53**, s. 103-110, 2005.
67. Kähkönen M.P., Hopia A.I., Vuorela H.J., Rauha J-P., Pihlaja K., Kujala T.S., Heinonen M., *Antioxidant activity of plant extracts containing phenolic compounds*, *Journal of agriculture and food chemistry*, **47**, s. 3954-3962, 1999.
68. Marniemi J., Hakala P., Maki J., Ahotupa M., *Partial resistance of low density lipoprotein to oxidation in vivo after increased intake of berries*, *Nutrition and metabolism on cardiovascular disease*, **10**, s. 331-337, 2000.
69. Misikangas M., Pajari A-M., Päivärinta E., Oikarinen S. I., Rajakangas J., Marttinen M., Tanayama H., Törrönen R., Mutanen M., *Three Nordic berries inhibit intestinal tumorigenesis in multiple intestinal neoplasia/+ mice by modulating β -catenin*

- signaling in the tumor and transcription in the mucosa*, The Journal of Nutrition, **137**, s. 2285-2290, 2007.
70. Päivärinta E., Pajari A.M., Törrönen R., Mutanen M., *Ellagic acid and natural sources of ellagitannins as possible chemopreventive agents against intestinal tumorigenesis in the Min mice*, Nutrition and Cancer, **54**, s. 79-83, 2006.
 71. Kallio H., Yang B., Wang H., Wang J., Song J., Meng H., Zhao H., *Animal experiments on the anti-inflammatory and analgesic effects of sea buckthorn oils, Biologically-active phytochemicals in food. Analysis, metabolism, bioavailability and function* (kirja), s. 69-73, Pfannhauser W, Fennwick R, Khokhar S., The Royal Society of Chemistry, Cambridge, UK, 2001.
 72. Larmo P., Alin J., Salminen E., Kallio H., Tahvonen R., *Effects of sea buckthorn berries on infections and inflammation: a double-blind, randomized, placebo-controlled trial*, European journal of clinical nutrition, **62**, s. 1123-1130, 2008.
 73. Yang B., Erkkola R., *Sea buckthorn oils, mucous membranes and Sjögren's syndrome with special reference to latest studies*, Sea buckthorn: A multipurpose wonder plant, Vol. 3., s. 254-267, Singh V. Daya publishing House, New Delhi, India, 2008.
 74. Xing J., Yang B., Dong Y., Wang B., Wang J., Kallio H.P., *Effects of sea buckthorn seed and pulp oils on experimental models of gastric ulcer in rats*, Fitoterapia, **73**, s. 644-650, 2002.
 75. Chauhan A.S., Negi P.S., Ramteke R.S., *Antioxidant and bacterial activities of aqueous extract of sea buckthorn seeds*, Fitoterapia, **78**, s. 590-592, 2007.
 76. Eccleston C., Yang B., Tahvonen R., Kallio H., Rimbach G.H., Minihane A.M., *Effects of an antioxidant rich juice(sea buckthorn) on risk factors for coronary heart disease in humans*, Journal of nutritional biochemistry, **13**, s. 346-354, 2002.
 77. Suomela J-P., Ahotupa M., Yang B., Vasankari T., Kallio H., *Absorption of flavonols derived from sea buckthorn and their effect on emerging risk factors for cardiovascular disease in humans*, Journal of agricultural and food chemistry, **54**, s. 7364-7369, 2006.
 78. Gupta A., Kumar R., Pal K., Singh V., Banerjee P.K., Sawhney R., *Influence of sea buckthorn flavones on dermal wound healing in rats*, Molecular and Cellular Biochemistry, **290**, s. 193-198, 2006.
 79. Yang B., Kalimo K.O., Mattila L.M., Kallio S.E., Katajisto J.K., Peltola O.J., Kallio H.P., *Effects of dietary supplementation with sea buckthorn seed and pulp oils on atopic dermatitis*, Journal of nutritional biochemistry, **10**, s. 622-630, 1999a.
 80. Yang B., Kallio H.P., Kalimo K.O., Mattila L.M., Tahvonen R.L., Kallio S.E., Katajisto J.K., *Effects of dietary supplementation with sea buckthorn seed and pulp oils on fatty acid composition of plasma lipids in patients with atopic dermatitis and measurement of skin surface roughness*, Functional foods – a new challenge for the food chemists kirja, s. 124-131, Lasztity R., Pfannhauser W., Simon-Sarkadi L., Tömösközi S., Publishing company of TUB, Budapest, Unkari 1999b.

81. Yang B., Wu J., Liu Q., Wang B., Kang J., Wang J., Kallio H., *Supercritical CO₂ extracted sea buckthorn pulp oil and seed oil improve blood microcirculation, Sea buckthorn: A multipurpose wonder plant* Kirja, Vol 3., s. 268-271, Singh V. Daya publishing House, New Delhi, India, 2008.
82. Basu M., Prasad R., Jayamurthy P., Arumughan C., Sawhney R.C., *Anti-atherogenic effects of sea buckthorn seed oil*, *Phytomedicine*, **14**, s. 770-777, 2007.
83. Cheng J., Kondo K., Suzuki Y., Ikeda Y., Meng X., Umemura K., *Inhibitory effects of total flavones of *hippophae rhamnoides* L. on thrombosis in mouse femoral artery and in-vitro platelet aggregation*, *Life science*, **72**, s. 2263-2271, 2003.
84. Mylnikov S.V., Kokko H.I., Kärenlampi S.O., Oparina T.I., Davies H.V., Stewart D., *Rubus fruit juices affect lipid peroxidation in drosophila melanogaster model in vivo*, *Journal of agricultural and food chemistry*, **53**, s. 7728-7733, 2005.
85. Knox Y.M., Suzutani T., Yoshida I., Azuma M., *Anti-influenza virus activity of crude extract of *ribes nigrum* L.*, *Phytotherapy research*, **17**, s. 120-122, 2003.
86. Knox Y.M., Hayashi K., Suzutani T., Ogasawara M., Yoshida I., Shiina R., Tsukui A., Terahara N., Azuma M., *Activity of anthocyanins from fruit extract of *ribes nigrum* L. against influenza A and B viruses*, *Acta virol*, **45**, s. 209-215, 2001.
87. Suzutani T., Ogasawara M., Yoshida I., Azuma M., Knox Y.M., *Anti-herpesvirus activity of an extract of *ribes nigrum* L.*, *Phytotherapy research*, **17**, s. 609-613, 2003.
88. Karlsen A., Rettersstøl L., Laake P., Paur I., Kjølrsrud-Bøhn S., Sandvik L., Blomhoff R., *Anthocyanins inhibit nuclear factor- κ B activation in monocytes and reduce plasma concentrations of pro-inflammatory mediators in healthy adults*, *Journal of nutrition*, **137**, s. 1951-1954, 2007.
89. Leventhal L.J., Boyce E.G., Zurler R.B., *Treatment of rheumatoid arthritis with black currant seed oil*, *Brittish journal of rheumatology*, **33**, s. 847-852, 1994.
90. Soeken K.L., Miller S.A., Ernst E., *Herbal medicines for the treatment of rheumatoid arthritis: a systematic review*, *Rheumatology*, **42**, s. 652-659, 2003.
91. Watson J., Byars M.L., McGill P., Kelman A.W., *Cytokine and prostaglandin production by monocytes of volunteers and rheumatoid arthritis patients treated with dietary supplements of blackcurrant seed oil*, *Brittish journal of rheumatology*, **32**, s. 1055-1058, 1993.
92. Matsumoto H., Hanamura S., Kawakami T., Sato Y., Hirayama M., *Preparative-scale isolation of four anthocyanin components of black currant (*Ribes nigrum* L.) fruits*, *Journal of agricultural and food chemistry*, **49**, s. 1541-1545, 2001.
93. Matsumoto H., Nakamura Y., Tachibanaki S., Kawamura S., Hirayama M., *Stimulatory effect of cyanidin 3-glycosides on the regeneration of rhodopsin*, *Journal of agricultural and food chemistry*, **51**, s. 3560-3563, 2003.

94. Matsumoto H., Kamm K.E., Stull J.T., Azuma H., *Delphinidin 3-rutinoside relaxes the bovine ciliary smooth muscle through activation of ETB receptor and NO/cGMP pathway*, *Experimental eye research*, **80**, s. 313-322, 2005a.
95. Nakamura Y., Matsumoto H., Todoki K., *Endothelium-dependent vasorelaxation induced by black currant concentrate in rat thoracic aorta*, *Japanese journal of pharmacology*, **89**, s. 29-35, 2002.
96. Iwasaki-Kurashige K., Loyaga R.Y., Matsumoto H., Tokunaga T., Azuma H., *Possible mediators involved in decreasing peripheral vascular resistance with blackcurrant concentrate (BC) in hind-limb perfusion model of the rat*, *Vascular pharmacology*, **44**, s. 215-223, 2006.
97. Matsumoto H., Takenami E., Iwasaki-Kurashige K., Osada T., Katsumura T., Hamaoka T., *Effect of blackcurrant anthocyanin intake on peripheral muscle circulation during typing work in humans*, *European journal of applied physiology*, **94**, s. 36-45, 2005b.
98. Nielsen ILF, Rasmussen S.E., Mortensen A., Ravn-Haren G., Ma H.P., Knuthsen P., Hansen B.F., McPhail D., Freese R., Breinholt V., Frandsen H., Dragsted L.O., *Anthocyanins increase low-density lipoprotein and plasma cholesterol and do not reduce atherosclerosis in Watanabe heritable hyperlipidemic rabbits*, *Molecular nutrition and food research*, **49**, s. 301-308, 2005.
99. Engler M.M., *Comparative study of diets enriched with evening primrose, black currant, borage or fungal oils on blood pressure and pressor responses in spontaneously hypertensive rats*, *Prostaglandins, Leukotrienes and essential fatty acids*, **49**, s. 809-814, 1993 (abst).
100. Deferne J.L., Leeds A.R., *Resting blood pressure and cardiovascular reactivity to mental arithmetic in mild hypertensive males supplemented with black currant seed oil*, *Journal of human hypertension*, **10**, s. 531-537, 1996 (abst).
101. Rauha J-P., Remes S., Heinonen M., Hopia A., Kähkönen M., Kujala T., Pihlaja K., Vuorela H., Vuorela P., *Antimicrobial effects of Finnish plant extracts containing flavonoids and other phenolic compounds*, *International Journal of Food Microbiology*, **56**, s. 3-12, 2000.
102. Ohgami K., Ilieva I., Shiratori K., Koyama Y., Jin X-H., Yshida K., Kae S., Kitaichi N., Suzuki Y., Tsuneo T., Shiyeaki O., *Anti-inflammatory effects of aronia extract on rat endotoxin induced uveitis*, *Investigative Ophthalmology and Visual Science*, **46**, s. 275-281, 2005.
103. Naruszewicz M., Laniewska P., Millo B., Dluzniwski M., *Combination therapy of statin with flavonoids rich extract from chokeberry fruits enhance reduction in cardiovascular risk markers in patients after myocardial infarction (MI)*, *Atherosclerosis*, **194**, s. 179-184, 2007.
104. Simeonov S.B., Botushanov N.P., Karahanian E.B., Pavlova M.B., Husianitis H.K., Troev D.M., *Effects of aronia melanocarpa juice as part of the dietary regimen in patients with diabetes mellitus*, *Folia med*, **44**, s. 20-23, 2002 (abst).

105. Erikoismarjat markkinoille, Marja-aronia, <http://www.marjamaa.fi/>, 15.4.2009.
106. Luomumarjat, Ruusunmarja, <http://www.luomumarjat.fi/>, 15.4.2009.
107. Dembinska-Kiec A., Mykkänen O., Kiec-Wilk B., Mykkänen H., *Antioxidant phytochemicals against type 2 diabetes*, British Journal of Nutrition, **99** s. 109-117, 2008.
108. Myllymäki O., Mokka M., Sainio T., *Selvitys marjojen fenolisten yhdisteiden eristämisen teknologiasta*, SITRA:n julkaisu yhteistyössä VTT:n kanssa. Raportin numero VTT-R-07449-07.
109. Daugherty F.J., Tempesta M.S., Freeberg D.R., Richheimer S.L., Gourdin G.T., Bailey D.T., Nichols R.L., Pat. CA 2554182, 2005, Compositions enriched in phenolic compounds and methods for producing same, Phenolics LLC (US), Appl. CA 20052554182, 20.1.2005, Published 11.8.2005, 119 s.
110. Gourdin G.T., Richheimer S.L., Bailey D.T., Nichols R.L., Freeberg D.R., Tempesta M.S., Daugherty F.J., Pat. WO 2005072762, 2005, Compositions enriched in phenolic compounds and methods for producing same, Phenolics LLC (US), Appl. WO 2005US01984, 20.1.2005, Published 11.8.2005, 117 s.
111. Tempesta M.S., Daugherty F.J., Bailey D.T., Freeberg D.R., Gertenbach D., Gourdin G., Richheimer S., Pat. WO 2002017732, 2002, Efficient method for producing compositions enriched in anthocyanins, Hauser Inc, Tempesta M.S. and Daugherty F.J., (US), Appl. WO 2001US27161, 31.8.2001, Published 7.3.2002, 36 s.
112. Happonen A., Proantosyanidiinit, niiden puhdistaminen puolukasta ja A-tyypin di- ja trimeerien antiaggregaatiotestaus, Pro Gradu, Ravitsemus- ja elintarvikebiotekniikka, Soveltavan biotekniikan instituutti, Luonnontieteiden ja ympäristötieteiden tiedekunta, Kuopion yliopisto, 2004.
113. Simestad R., Pat. WO 2003039569, 2003, Product, Appl. PCT/GB2002004506, 4.10.2002, Published 15.5.2003, 4 s.
114. Nair M.G., Pat. US 2005037130, 2005, Method and compositions for producing berry derived products, University of Michigan (US), Appl. US 20040821581, 9.4.2004, Published 17.2.2005, 14 s.
115. Xu X., Xie B., Pan S., Yang E., Wang K., Cenkowski S., Hydamake A. W. and Rao S., A new technology for extraction and purification of proanthocyanidins derived from sea buckthorn bark, *Journal of the Science of Food and Agriculture* **86**(2006), 3, 486–492.
116. Gabetta B., Zini G., Pat. EP 0412300, 1991, Process for the preparation of extracts having high content in anthocyanisides, Inverni Della Beffa Spa (IT), Appl. EP 19900113064, 9.7.1990, Published 13.2.1991, 5 s.
117. Bailey D.T., Freeberg D.R., Gertenbach D., Gourdin G.T., Richheimer S.L., Tempesta M.S., Daugherty F.J., Pat. US 20020055471, 2002, Efficient method for producing

- compositions enriched in anthocyanins, Appl. US 20010943158, 20.8.2001, Published 9.5.2002, 17 s.
118. Majoie B., Pat. DE 1767614, 1972, process for extracting anthocyanins and medicaments containing such compounds, Rech S Ind Sorisa Soc (D), Appl. DE 19681767614, 29.5.1968, Published 30.3.1972, 25 s.
 119. Daugherty F.J., Tempesta M.S., Pat. WO 200601449, 2006, Cinnamon extract enriched for polyphenols and methods of preparing same, Phenolics LLC (US), Appl. WO 2005US24003, 6.7.2005, Published 2.9.2006, 125 s.
 120. Yamamoto H., Nagano C., Takeuchi F., Shibata J., Tagashira M. and Ohtake Y., Extraction of polyphenols in hop bract part discharged from beer breweries, *Journal of chemical engineering of japan* 39(2006), 9, 956-962.
 121. Soulier C., Dufour D., Pat. US 2002018821, 2002, Process for the purification of red fruit extract containing anthocyanosides extract obtained from the process and use of said extracts, Appl. US 20010929269, 14.8.2001, Published 14.2.2002, 6 s.
 122. Gourdin G.T., Richeimer S.L., Tempesta M.S., Bailey D.T., Nichols R.L., Daugherty F.J., Freeberg D.R., Pat. US 2005266104, 2005, Efficient method for producing compositions enriched in total phenols, Phenolics LLC (US), Appl. US 20050179771, 12.7.2005, Published 1.12.2005, 55 s.
 123. Hu Y., Pat. CN 1923831, 2007, Method for extracting polyphenol from grape seed, Zhejiang recover biotech com ltd. (CN), Appl. CN 2005-10060603, 1.9.2005, Published 7.3.2007, 7 s.
 124. Shirkhande A.J., Race E.J., Wightman J.D., Sambueso R.D., Pat. US 6544581, 2003, Process for extraction, purification and enrichment of polyphenolic substances from whole grapes, grape seed and grape pomace, Canandaigua wine company Inc (US), Appl. US 20000599333, 22.6.2000, Published 8.4.2003, 13 s.
 125. Phenolic compounds in berries, PhD thesis, Kaisu Määttä-Riihinen, Kuopion yliopisto, 2005.
 126. Hertog M.G., Hollman PCH, Katan M.B., *Content of potentially anticarcinogenic flavonoids of 28 vegetables and 9 fruits commonly consumed in The Netherlands*, *Journal of agriculture and food chemistry*, **40**, s. 2379-2383, 1992.
 127. Mazur W., Fotsis T., Wähälä K., Ojala S., Salakka A., Adlercreutz H., *Isotope dilution gas chromatographic-mass spectrometric method for the determination of isoflavonoids, coumestrol, and lignans in food samples*, *Analytical biochemistry*, **233**, s. 169-180, 1996.
 128. Luximon-Ramma A., Bahorum T., Crozier A., Zbarsky V., Datla K. P., Dexter D. T., Aruoma O. I., Characterization of the antioxidant functions of flavonoids and proanthocyanidins in Mauritian Black teas, *Food research international* **38**(2005), 4, s. 357-367.

129. Rutanen J., *Katsaus luontoyrittäjyyteen, alan nykytilaan ja tulevaisuuden näkymiin*, Suomen luontoyrittäjyysverkosto ry, Metsäsektorin sosiaalinen ja kulttuurinen kestävyys-työryhmä, 18.5.2005.
130. Mikkonen H., Myllykoski L., Keiski R. L., Mahlan, petun ja kuusenkerkkien hyödyntäminen, Report 281, s. 38-43, University of Oulu, Oulu 2002.
131. Pettu ja petun käyttö, Suomen luontoyrittäjyysverkosto ry, www.luontoyrittaja.net, 14.4.2009.
132. Pettutietoa ja kontakteja, Finnpettu-osuuskunta, www.vitabark.com, 14.4.2009

Lisätietoa

133. Tietoa elintarvikkeista, Suomen ruokatieto ry, Finfood, <http://www.ruokatieto.fi/>, 15.4.2009.
134. Peusa J., Piilo T., *Tietoa marjojen, hedelmien ja vihannesten ravitsemuksellisesta koostumuksesta ja teknologisista ominaisuuksista*, kirjallisuus ja tutkimuskatsaus 2006.
135. Kähkönen M.P., Heinämäki J., Ollilainen V., Heinonen M., *Berry anthocyanins: isolation, identification and antioxidant activities*, Journal of the Science of Food and Agriculture, **83**, s. 1403-1411, 2003.
136. *Studies in natural products chemistry* vol. 21 Atta ur-Rahman, 1st ed. Elsevier 2000, s. 497-570.
137. Tietoa hedelmien ja marjojen polyfenoleista, www.phytochemicals.info, 27.4.2009.
138. Tietoa marjoista ja hedelmistä sekä niiden koostumuksista, www.superfruits.org, 27.4.2009.