

Puolukan terveysvaikutteiset yhdisteet

Luonnontuotealan tutkimusseminaari
Laadukkailla tuotteilla uusia avauksia
5.11.2019 Kajaani

**OULUN
YLIOPISTO**

Mari Jaakkola, FT
Mittaustekniikan yksikkö (MITY)
Kajaanin yliopistokeskus, Oulun yliopisto



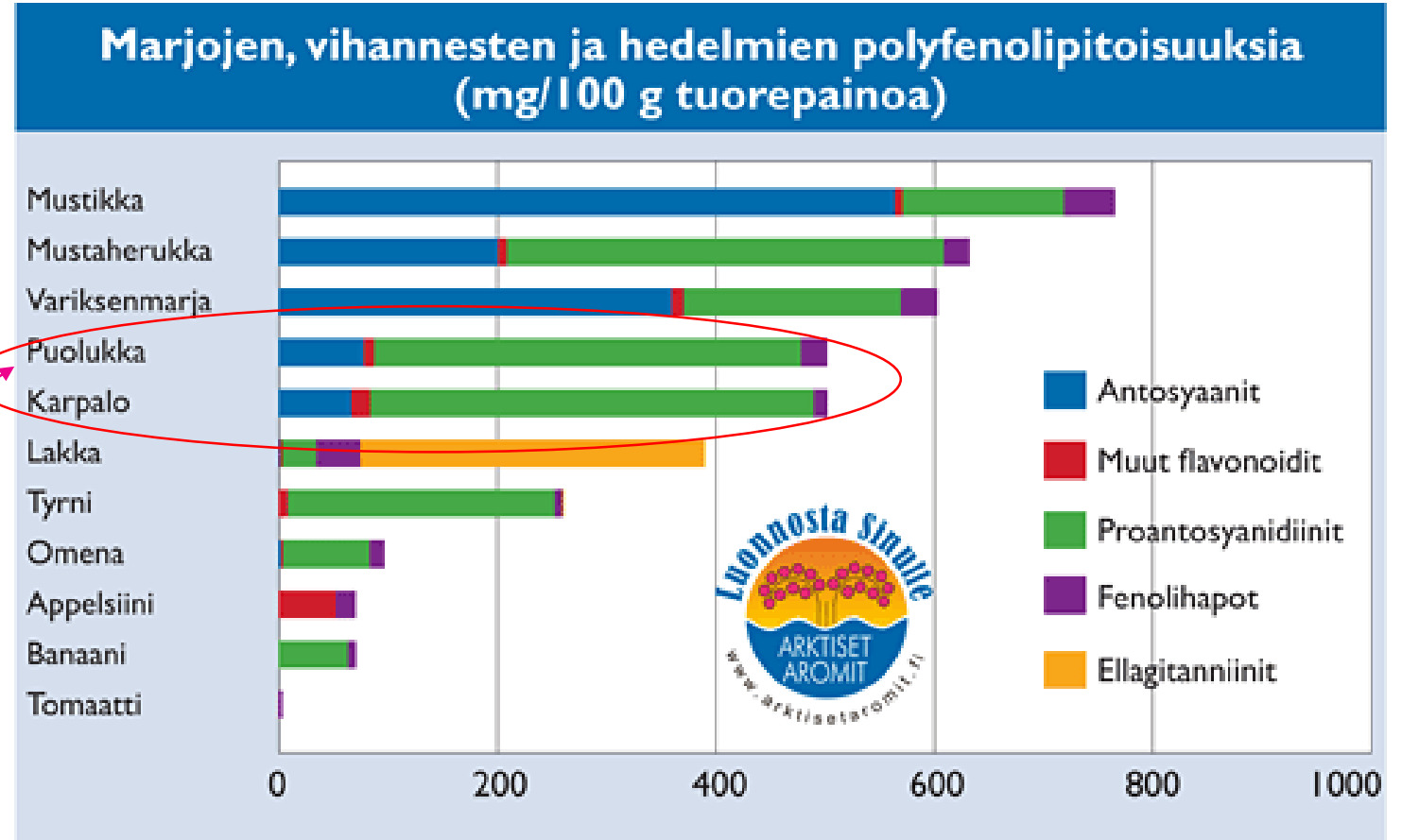


PUOLUKAN KOOSTUMUS

Puolukan kuiva-aineen koostumus*:

- 80% hiilihydraatteja
 - Sokereita
 - Kuituja
 - Täkkelystä
- 15% orgaanisia happoja
- 2% rasvahappoja
- n. **2 % polyfenoleita**
- n. 1% kivennäisaineita
- < 1% vitamiineja (C-vitam.)

*Lähde: Fineli

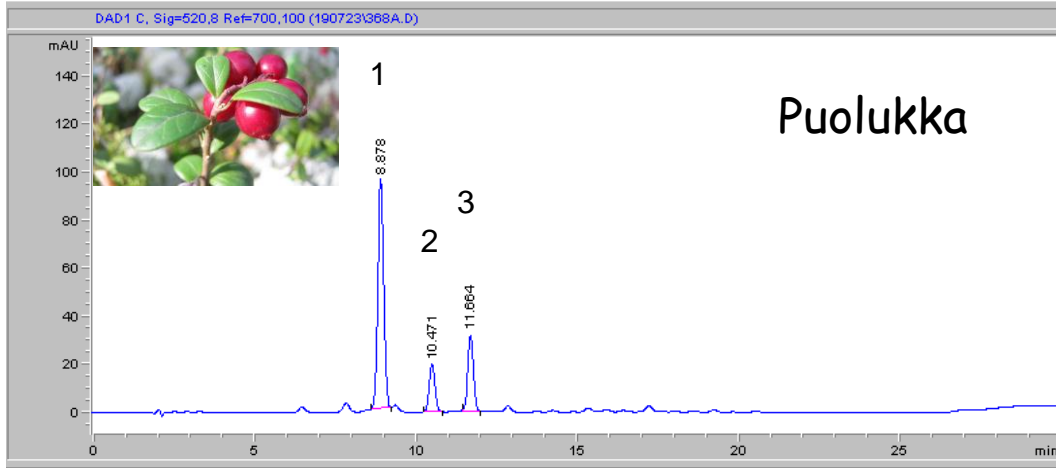


Lähde: Koponen ym. 2007. Hellström ym. 2009.

<https://www.arktisetaromit.fi/fi/marjat/ravintosisalto/ravintosisaltotaulukoita/>



Antosyaanit - analytiikka



Puokan antosyaanianalyysi (HPLC-DAD kromatogrammit)

Puolukan antosyaanien puhtasaineilla:

- Sydän- ja verisuonitaudeilta suojaavia ominaisuuksia (Schroeter 2010)
- Säteilyn aiheuttamalta hapettumiselta suojaavia vaikutuksia (Fan 2012).

Puolukka (*Vaccinium vitis-idaea*)

- 3 pääasiallista antosyaania

- 1) cyanidin-3-O-galactoside (C3Ga)
- 2) cyanidin-3-O-glucoside (C3Gl)
- 3) cyanidin-3-O-arabinoside (C3Ar)

- 4) peonidin-3-O-galactoside (P3Ga)
- 5) peonidin-3-O-arabinoside (P3Ar)
- 6) petunidin-3-O-galactoside (?)
- 7) malvidin-3-O-galactoside (?)

Karpalo (*Vaccinium macrocarpon*)

- n. 7 pääasiallista antosyaania

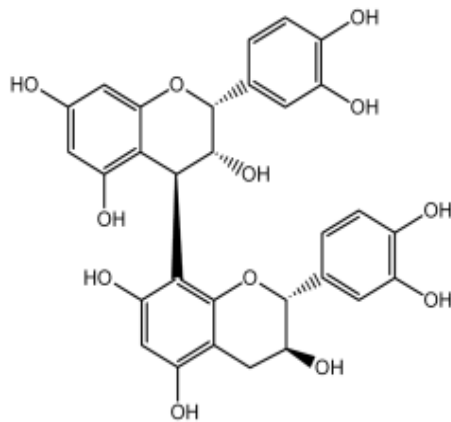
*J AOAC Int. 2011 Mar-Apr; 94(2): 459–466.



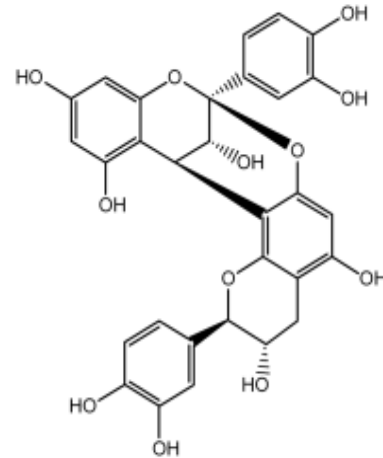
Puolukan proantosyanidiinit

Katekiiniyksiköistä muodostuneita polymeerisiä rakenteita

B-type Dimer (B-1)



A-type Dimer (A1)



Antioksidatiivisia, antikarsinogeenisia, sydän- ja verisuonitauteja ehkäiseviä, antimikrobisia, virusten kasvua estäviä, sekä hermostoa suojaavia vaikutuksia (Aron 2008)

A-typin proantosyanidiinit

- Ainoastaan puolukassa ja amerikankarpalossa merkittäviä määriä
- Virtsatieinfektiota estäviä vaikutuksia



Terveysväittämää haettu amerikankarpalolle

- v. 2011: Ranskan elintarviketurvallisuusvirasto hyväksyi Proantojen *kokonaismäärä* tuotteessa 36 mg
- v. 2013: EFSA ei myöntänyt puutteellisen klinisen näytön takia 2013*
- v. 2017 Health Canada hyväksyi väittämän meta-analyysin perusteella
- v. 2018 FDA:n käsittelyssä → ratkaisu?

*EFSA Journal 2013;11(7):3326



Proantosyanidiinit – analytiikan haasteet

Proantosyanidiinien analytiikan haasteita

- Useita erilaisia polymeroitumisasteita
- Standardiaineiden puute
- Erilaiset määrittämenetelmät antavat erilaisia tuloksia



Vakioitu männynkuoriuute
prosyaniidiinianalytiikkaan (USP 37)
-spektrofotometrinen määrittäminen



Proantosyanidiinirikas puolukkajauhe



Miksi jauhe?

- Parempi säilyvyys
- Säilytys- ja logistiikkaratkaisut helpompia
- Kliinisissä kokeissa maku ei haittaava tekijä?

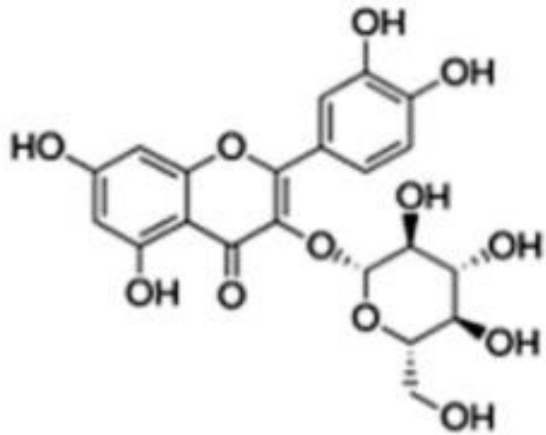
Proantosyanidiinit jauheessa:

BL-DMAC –menetelmällä n. 30%

A ja B -tyypin rakenteet n. 1:1 (kvantitoitujen yhdisteiden perusteella)



Flavonolit - Kversetiini



Quercetin glycoside

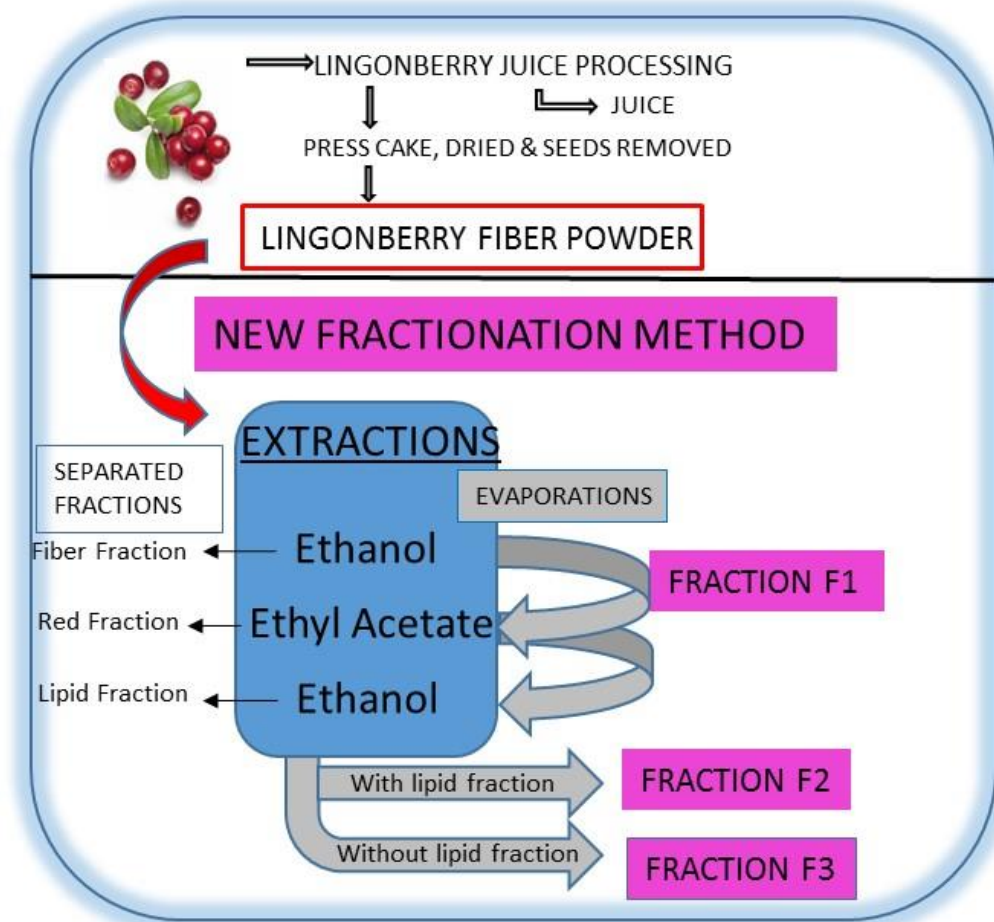
Kversetiini

- Hyvin yleinen kasveissa, puolukassa korkea määrä
- Puolukassa ei merkittävästi muita flavonoleja
→ ero karpaloon
- Kasveissa yleensä sokerijohdannaisena
- Paljon potentiaalisia terveysvaikutuksia





Kversetiini -puolukkarikasteita kosmetiikkaan

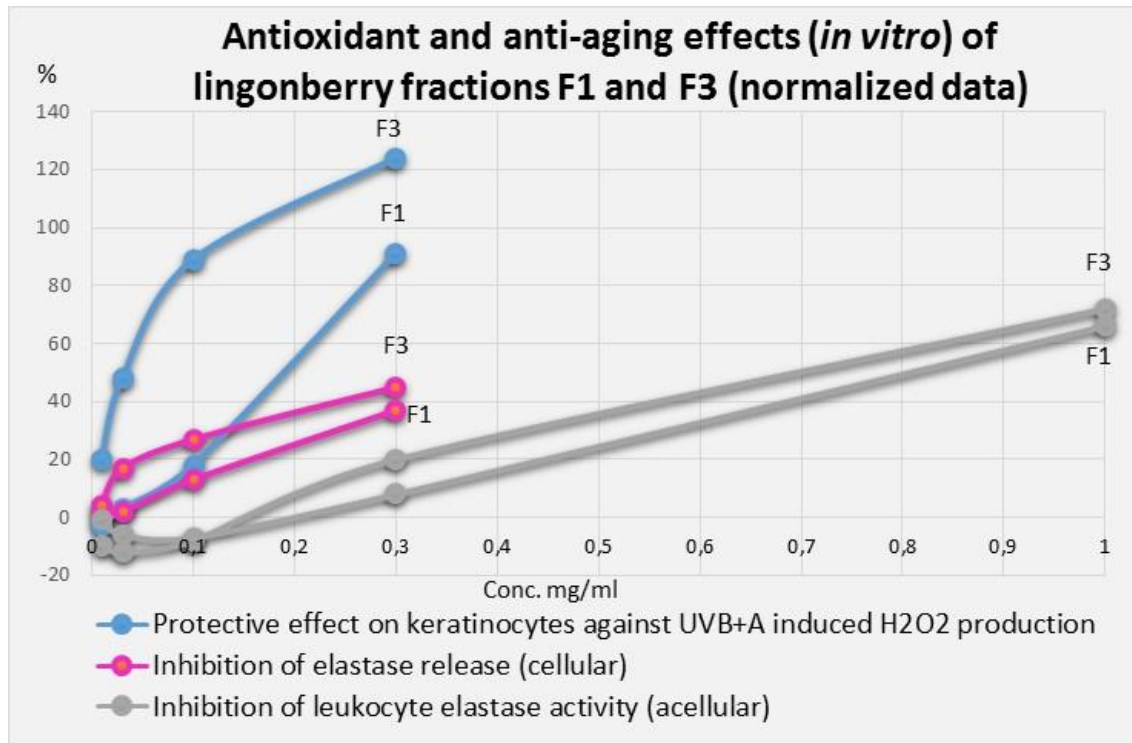


- Raaka-aineena puolukkamehun puristuksesta jäävä kuorimassa
- Menetelmässä käytetään ainoastaan "turvallisia" liuottimia.

"No limits to residual solvents in food according to EU directive (2009/32/EY)"



Kversetiinirikasteiden aktiivisuus



LUMENE Oy vastasi *in-vitro* tutkimuksista

- Rikasteen vaikutus ihosta ja formuloinnissa

Suojaa UV -säteilyltä

- Suojaa ihosoluja UVA ja UVB -säteilyn hapettavilta vaikutuksilta

Suojaa ihoa ikääntymisen vaikutuksilta

- Heikentää elastaasientsyymin vapautumista ja aktiivisuutta
→ Parantaa ihon elastisuutta



Puolukkarikaste kaupallisessa tuotannossa



LUMENE Oy

- osti prosessointimenetelmän hyödyntämisoikeudet kosmetiikkasovellukseen
- kehitti kosmeettisten tuotteiden formuloinnin
- Eurooppalainen patentti 12/2017 (EP2914242B1)
- Uusi tuoteperhe "Kuulas" markkinoille
- Jokainen tuotantoerä kemialliseen analyysiin Oulun yliopistoon (MITY) rikasteen laadun varmentamiseksi (huom. raaka-aineen luontainen vaihtelu)



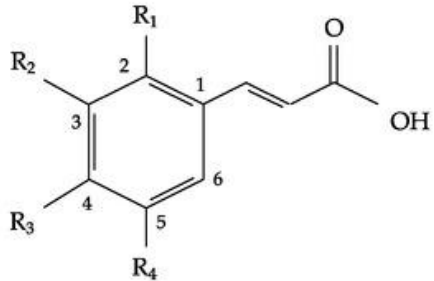
Stilbeenit - Resveratrol

- ”Ranskalainen paradoksi”
- Resveratrolin tunnetuin lähde tumma viinirypäle
- Pohjois-Amerikkalaisesta puolukasta mitattu vastaavia määriä resveratrolia kuin viinirypälestä
- Vähän tutkimustuloksia Skandinaavisesta puolukasta
- Analytiikka haastavaa pienen pitoisuuden vuoksi

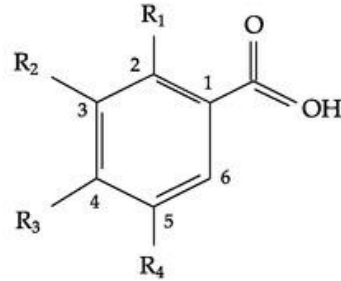
Stilbeenit mahdl. suojaavat useilta ikääntymiseen liitetyiltä sairauksilta, kuten ylipaino, tyypin 2 diabetes, ikään liittyvä silmänpohjan rappeuma ja Alzheimerin tauti (Reinisalo 2015)



Fenoliset hapot



Hydroxycinnamic acids



Hydroxybenzoic acids

Puolukassa mm.:

p-hydroxybentsoehappo, protokatekiinihappo, p-kumariinihappo, klorogeenihappo, kahvihappo ja ferulihappo

Flavonoidien ohella yleisimpiä kasvien fenoliyhdisteitä

Hydroksikanelihappojen ja hydroksibentsoehappojen johdannaisia

Puolukassa paljon **bentsoehappo**

- Laskee pH:ta ja estää mikrobien kasvua

→ Parantaa säilyvyyttä

→ Hankaloittaa fermentointia*

Antioksidantteja (useita mekanismeja)

Hydroksibentsoehapoilla sydän ja verisuonisairauksilta suojaavia vaikutuksia (Juurlink 2014)

Hydroksikanelihapot vaikuttavat suotuisasti sokeri- ja rasva-aineenvaihduntaan ja mahdollisesti suojaavat ylipainolta (Alam 2016)

*Visti, A., Viljakainen, A., Laakso, S. (2003) Preparation of fermentable lingonberry juice through removal of benzoic acid by *Saccharomyces cerevisiae* yeast, *Food Research International* 36(6):597-602.

Open Access *Plants* 2018, 7(1), 2; <https://doi.org/10.3390/plants7010002>



Fermentoitu puolukkamehu

- Patentoitu menetelmä puolukkamehun fermentointiin, Pirjo Pärnänen, 2017 (EP2585087B1)
 - Sokerin poistaminen mehusta
 - Fenolisten aktiiviaineiden rikastaminen
- Potilaskoe 30 henkilöllä
 - kariesta aiheuttavan *Streptococcus mutans* -bakteerin ja hiivatulehdusta aiheuttavan *Candidan* määrä aleni



Pärnänen, P, 2017, A preparation for balancing the composition of the oral microbial flora, EP2585087B1.

Pärnänen et al 2017, The Effect of Fermented Lingonberry Juice on *Candida glabrata* Intracellular Protein Expression ' , International journal of Dentistry .

<https://doi.org/10.1155/2017/6185395>

Pärnänen, et al 2019, Antimicrobial and Anti-Inflammatory Lingonberry Mouthwash—A Clinical Pilot Study in the Oral Cavity. *Microorganisms* 2019, 7, 331.



JOHTOPÄÄTÖKSIÄ



Suomen metsissä kasvaa ihmemarja puolukka, joka paljastuu jatkuvasti terveellisemmäksi ja terveellisemmäksi
Helsingin Sanomat 29.4.2019

Tutkija poisti puolukasta sokerin ja testasi sen tehoa muun muassa reikiä hampaisiin aiheuttavaan kariesbakteeriin. Puolukan tiedetään auttavan myös monessa muussa terveysvaivassa.

- Puolukan vaikuttavuustutkimusten lisääntyessä sen kiinnostavuus markkinoilla kasvaa
 - Tarve laadun analytiikkaan lisääntyy
 - Erottaminen karpalosta, muista marjoista ja väärennöksistä
- Analytiikka tärkeää
 - Kliinisissä tutkimuksissa käytettävien valmisteiden vakiointiin
 - Terveysväittämä -hakemusten tueksi
 - Kaupallisten valmisteiden laadun ja vaikuttavuuden varmentamiseen

KIITOS!

Marianne Mäki, FM
Hanna-Liisa Malinen, MMM
Riitta Lotvonen
Kirsi Kuvaja

Pekka Kilpeläinen, FT
Jarkko Rätty, FT
Vesa Virtanen, FT, prof.



Science with Arctic Attitude