



Tyrnipuristeen sisältämät rasvaliukoiset uuteaineet

Aatu Kukkola

Kandidaatintutkielma

Kemian tutkinto-ohjelma

Oulun yliopisto

2023

TIIVISTELMÄ

Mehun tuotannossa marjoja puristetaan, ja niistä jää jäljelle kiinteä osa. Kiinteää osaa kutsutaan puristeeksi, ja sitä syntyy tyrnimehun puristuksessa lähes saman verran kuin itse mehua. Tyrnipuriste on merkittävä tyrnimehun tuotannon sivuvirta, jonka hyödyntäminen parantaa tuotannon kannattavuutta ja ympäristöystävällisyyttä. Tutkielmassa tarkastellaan puristeen sisältämiä yhdisteitä ja puristeen käyttökohteita, keskittyen erityisesti öljyn uuttamiseen puristeesta. Eri uuttomenetelmiä verrataan, käydään läpi parhaat uuttoparametrit, sekä vertaillaan menetelmien tehoa tokoferolien, sterolien ja karotenoidien uuttoon. Tutkielmassa tarkastellaan myös valitun uuttomenetelmän vaikutusta ympäristöön ja terveyteen.

Aineistoina käytettiin tutkimusdataa tyrniöljyn uutosta, puristeen sekä koko marjan sisällöstä ja muuta tyrniöljyn sekä puristeen käyttökohteisiin ja kiinteä-nesteuuttoon liittyvää tietoa. Tyrniöljyn uutossa puristeesta käytetään poolittomia liuottimia, esimerkiksi heksaania. Heksaani on fossiilisiin raaka-aineisiin pohjautuva liuotin, ja uusia vihreitä uuttomenetelmiä on kehitetty sen syrjäyttämiseksi. Näistä tutkielmassa tarkastellaan ylikriittistä hiilidioksiduuttoa, ylikriittistä uuttoa kanssaliuottimella, paineistettua nesteuuttoa, ultraääniavusteista uuttoa, mikroaaltoavusteista uuttoa, entsyymiavusteista uuttoa ja emulsiopohjaista uuttoa.

Tyrnin puristeöljy sisältää paljon rasvahappoja, tokoferoleja, steroleja ja karotenoideja. Rasvahapoista suurin osa on monityydyttymättömiä. Ylikriittinen hiilidioksidi ja monet muut vihreät liuottimet ja uuttomenetelmät ovat toimiva tapa uuttaa tyrnin puristeöljyä. Esimerkiksi ylikriittisellä hiilidioksidilla päästään samansuuruisiin tuloksiin kaikkien tässä tutkielmassa käsitellyiden yhdisteiden uutossa.

SISÄLLYSLUETTELO

1. JOHDANTO	4
2. TYRNIPURISTEEN SISÄLTÖ JA UUTTOMENETELMÄT	5
2.1. Tyrnin rasvaliukoiset yhdisteet.....	6
2.2. Kiinteä-nesteuutto.....	9
2.3. Soxhlet-uutto	10
2.4. Ylikriittinen nesteuutto	11
2.5. Paineistettu nesteuutto	13
2.6. Mikroaaltoavusteinen uutto.....	14
2.7. Muut uuttomenetelmät.....	14
2.8. Yhteenveto uuttomenetelmistä	15
3. TYRNIPURISTEEN RASVALIUKOISTEN YHDISTEIDEN UUTTO.....	17
3.1. Rasvahappojen uutto.....	17
3.2. Tokoferolien ja sterolien uutto.....	18
3.3. Karotenoidien uutto	19
4. YHTEENVETO	20
5. VIITTEET.....	21

1. JOHDANTO

Tyrni (*Hippophae Rhamnoides*) on oransseja marjoja tuottava puuvartinen pensas, jota kasvaa laajalla alueella Pohjois-Euraasiassa.¹ Suomessa sitä kasvatetaan sekä myytäväksi että puutarhakasvina. Tyrniä kulutetaan sen maun ja väitettyjen sekä tieteellisesti tuettujen terveysvaikutusten vuoksi monella tapaa. Itse marjoista tehdään esimerkiksi hilloa, mehua ja makeisia ja niitä lisätään kokonaisina myös muihin ruokiin. Kuivattuna tyrnimarjoja tai tyrnikasvin lehtiä voi käyttää teehen ja monissa osissa maailmaa niitä käytetään perinteisessä lääketieteessä.² Tyrnien sukuun kuuluu muutamia lajeja, joista Suomessa tavataan vain *Rhamnoides*-lajia alalajina *Rhamnoides*.¹

Mehun tuotannossa marjoja puristetaan mekaanisesti, ja syntyvä neste joko myydään sellaisenaan mehuna tai jalostetaan eteenpäin. Puristuksessa prssiin jää marjojen kiinteä sisältö. Jäljelle jäävää massaa kutsutaan puristeeksi ja yhden puristuskerran tuottamaa kappaletta puristekakuksi. Yhden marjan massasta noin 45 % jää puristekakkuun, joten puristetta syntyy yhdestä tonnista marjoja noin 450 kg.¹ Tämän sivuvirran hyötykäyttö voi tehdä mehutuotannosta kannattavampaa ja ekologisesti kestävämpää.

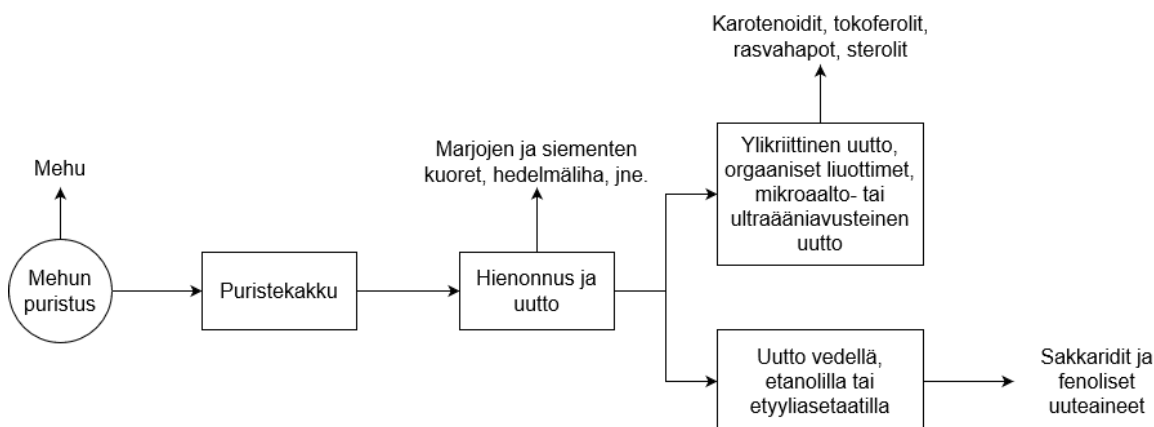
Tyrni ja sen puriste sisältävät tärkeitä fytokeemikaaleja kuten C-vitamiinia, riboflaviinia, niasiinia, foolihappoa, tokoferolia, flavonoideja, karotenoideja ja tyydyttymättömiä rasvahappoja. Näiden pitoisuudet vaihtelevat huomattavasti eri lajien, alalajien ja kasvuolosuhteiden välillä.¹

Tässä tutkielmassa tarkastellaan tyrnipuristeen sisältämiä rasvaliukoisia kemikaaleja ja niiden uuttomenetelmiä. Lopuksi verrataan eri uuttomenetelmien soveltuvuutta tyrnin rasvahappojen, tokoferolien, sterolien ja karotenoidien uuttoon.

2. TYRNIPURISTEEN UUTEAINEET JA UUTTOMENETELMÄT

Tyrnimehun puriste on öljyistä ja kuitupitoista massaa.¹ Puristekakussa on siemeniä, marjojen kuoria ja hedelmälihaa. Mehupuristetta käytetään useasti eläinten rehuna ja rehun lisäaineena. Tyrnipuriste sopii hyvin rehuun sen korkean ravinnepitoisuuden ja hyvän säilyvyyden vuoksi. Tyrnipuristeeseen lisäämisen rehuun on esimerkiksi huomattu parantavan syöttökanojen kasvua.³ Tyrnin käytölle eläinten ruokinnassa onkin pitkä perinne, ja siitä johtuu myös sen tieteellinen nimi *Hippophae* (suom. "kiiltävä hevonen"). Monista mehupuristeista on myös tuotettu pyrolyysin avulla biohiiltä. Myös tyrnipuristetta voidaan käyttää tähän tarkoitukseen. Biohiiltä voidaan käyttää esimerkiksi adsorbenttina veden puhdistuksessa.⁴

Puristeella on sellaisenaan käyttökohteita, mutta siitä voidaan myös uuttaa bioaktiivisia yhdisteitä. Tyrnin puristekakusta halutaan yleensä uuttaa öljyä, jonka uuttoon käytetään poolittomia liuottimia. Tyrnipuristeessa on myös poolisia bioaktiivisia yhdisteitä, kuten sakkarideja ja fenolisia yhdisteitä.^{5,6} Kuvassa 1 on esitetty mehupuristeeseen uuttoprosessi. Joissain tutkimuksissa on siemeniä käsitelty erikseen^{5,7}, koska niiden kemiallinen sisältö on erilainen kuin puristeeseen kokonaissisältö.⁸



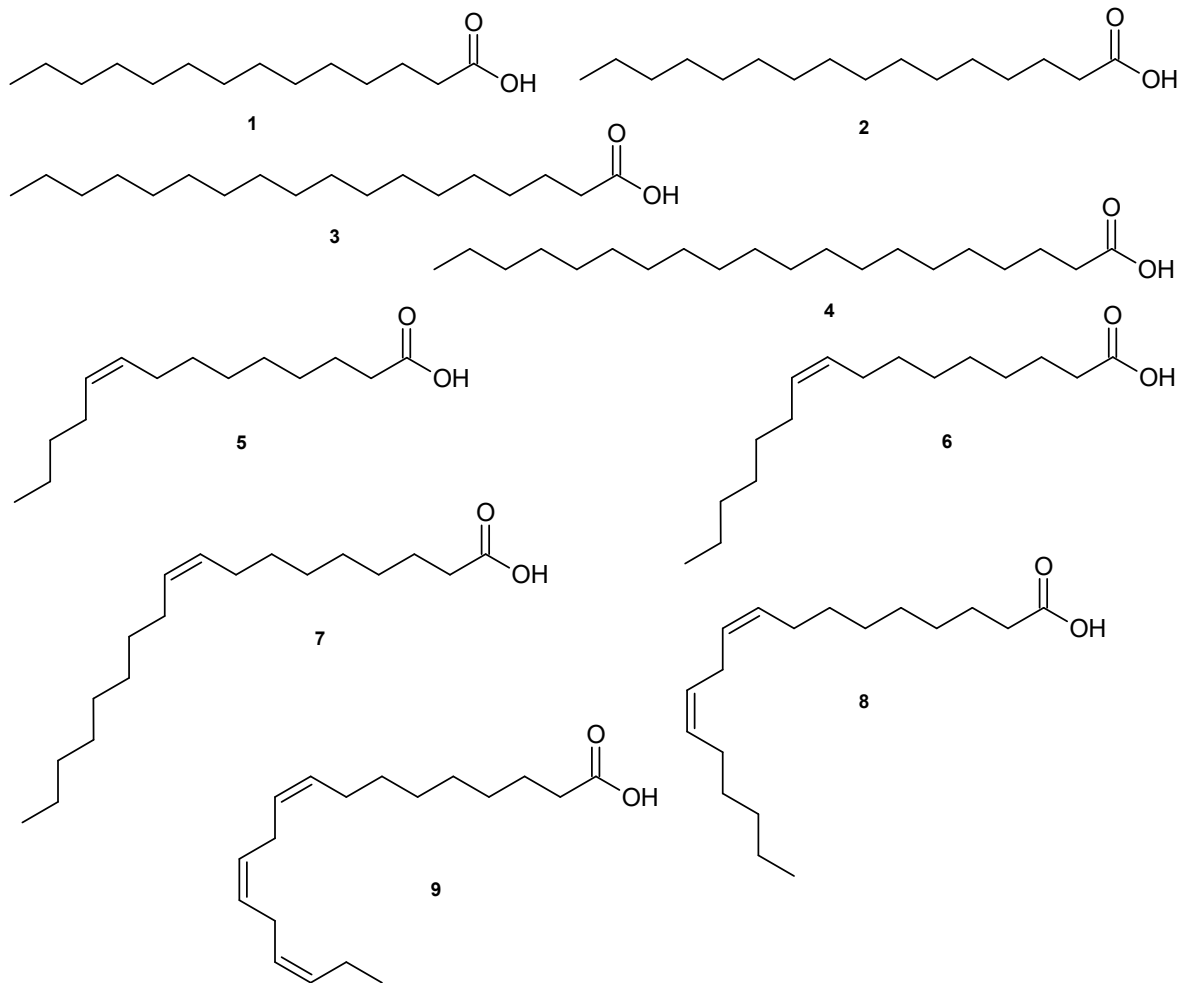
Kuva 1. Tyrnimehun puristuksen sivutuotteet ja uuttoprosessin vaiheet.

Tyrnin rasvaliukoiset yhdisteet ovat marjan lääketieteellisesti tärkeimpiä fytokemikaaleja. Niihin kuuluvat muun muassa tyydyttymättömät rasvahapot, tokoferolit, karotenoidit ja fytoosterolit.¹

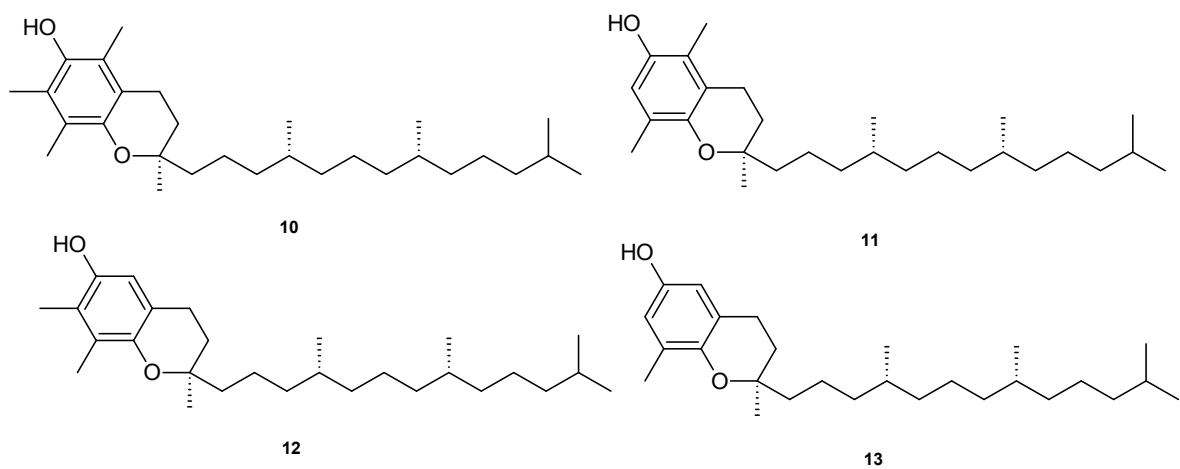
Öljyä on jokaisessa osassa tyrnin marjaa, mutta se voidaan jakaa kolmeen tyyppiin niiden fytokemiallisten koostumusten mukaan: hedelmälihan öljy, kuoriöljy ja siemenöljy. Näistä kaikkia jää jäljelle puristuksen jälkeen. Siemenet voidaan kuitenkin poistaa puristeesta, ja osassa öljyyn liittyvistä tutkimuksista on käsitelty vain siemenöljyä, osassa hedelmälihan ja kuoren öljyä ja osassa puristeesta on uutettu öljyä kokonaisuudessaan.⁸

2.1. Tyrnin rasvaliukoiset yhdisteet

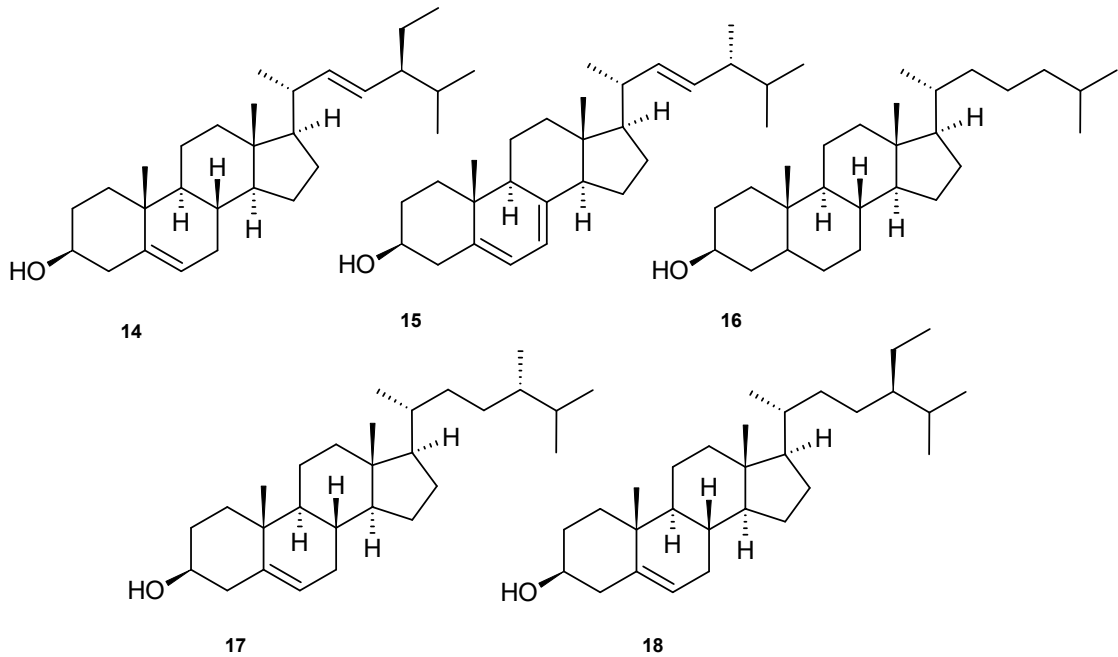
Tyydyttymättömät rasvahapot voivat alentaa kolesteroliarvoja ja vähentää sydänsairauksien riskiä.⁹ Suurin osa tyrnin rasvahapoista ovat tyydyttymättömiä. Tyrnipuriste sisältää tyydyttyneistä rasvahapoista myristiinihappoa (**1**), palmitiinihappoa (**2**), steariinihappoa (**3**) ja arakidihappoa (**4**), yksinkertaisesti tyydyttymättömistä myristoleiinihappoa (**5**), palmitoleiinihappoa (**6**) ja oleiinihappoa (**7**) sekä monitydyttymättömistä linolihappoa (**8**) ja linoleeni-happoa (**9**).⁸ Linoli- ja linoleeni-hapot ovat ihmisille välttämättömiä ω -6- ja ω -3-rasvahappoja.⁹ Palmitiini- ja palmitoleiinihappoa on paljon kuoren ja hedelmälihan öljyssä. Siemenöljyssä on enemmän ω -rasvahappoja kuin pehmeiden osien öljyssä.¹



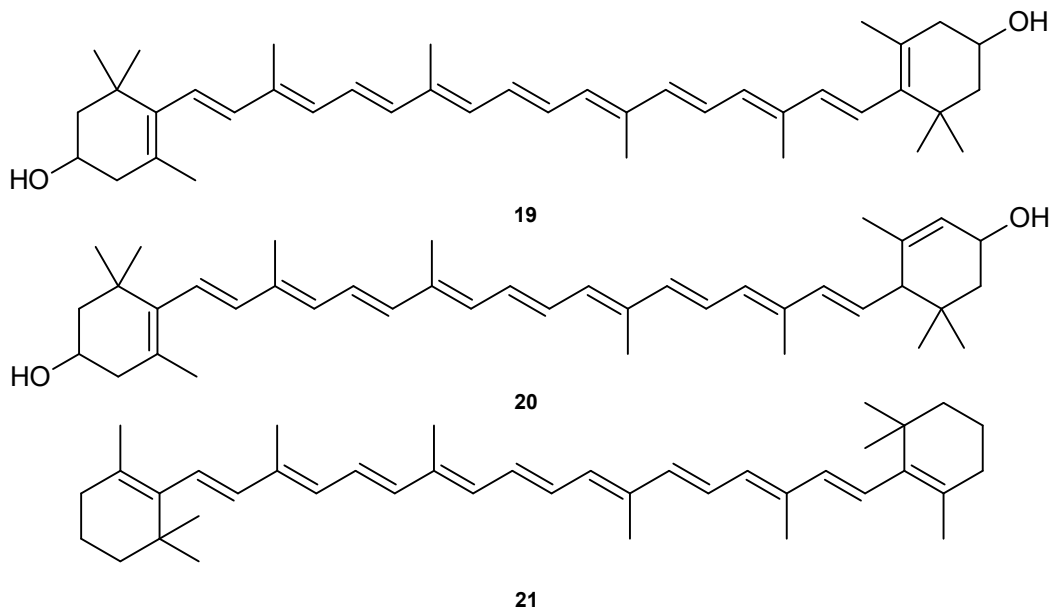
Tokoferoleihin kuuluvat α -, β -, γ - ja δ -tokoferoli (**10**, **11**, **12**, **13**). Tokoferolit ovat ihmiselle tarpeellisia hivenaineita, koska ne toimivat kehossa E-vitamiineina. E-vitamiini on vahvin rasvaliukoinen antioksidantti.¹⁰ Tyrniöljy sisältää runsaasti α -tokoferolia ja jonkin verran β - ja γ -tokoferolia mutta vain vähän δ -tokoferolia.⁸



Tyrnipuristeen steroleihin kuuluvat stigmasteroli (**14**), β -sitosteroli (**15**), ergosteroli (**16**), kolestan-3-oli (**17**) ja kampesteroli (**18**). β -sitosterolia on näistä ylivoimaisesti eniten. Kasvien sterolit voivat vähentää kolesterolin imeytymistä elimistössä, joten niiden sisällyttämistä ruokavalioon on suositeltu niille, joiden kolesteroliarvot ovat kohonneet.¹¹



Eri tyrnilajikkeiden karotenoidisisältö vaihtelee huomattavasti, mutta useimmiten zeaksantiinia (**19**), luteiinia (**20**) sekä β -karoteenia (**21**) esiintyy eniten.¹² β -karoteeni on yksi karotenoideista, joita ihmiskeho voi käyttää A-vitamiinin tuottamiseen. Karotenoidien muille terveystaakatuksille on heikkoa näyttöä. Esimerkiksi zeaksantiinilla ja luteiinilla saattaa olla rooli näkökyvyn säilymisessä.¹³ Karotenoideja on enimmäkseen marjan pehmeissä osissa, noin 5-10 g/kg, ja siemenissä niitä on paljon vähemmän, noin 20-85 mg/100 g.¹



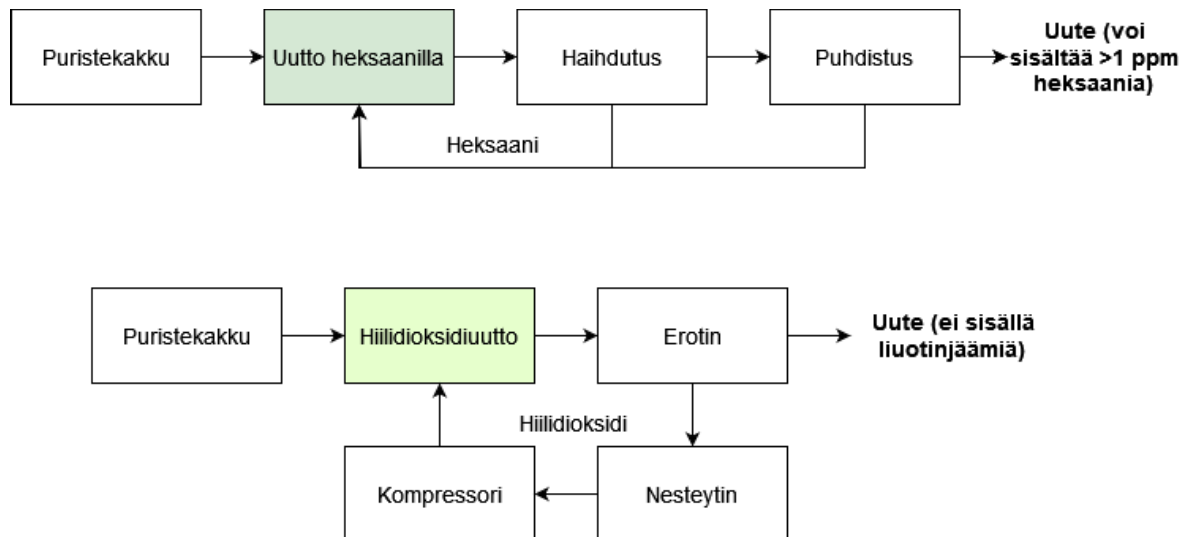
2.2. Kiinteä-nesteutto

Kiinteä-nesteutossa uutettavat kemikaalit siirretään kiinteästä matriisista liuosfaasiin. Uuttomenetelmät voidaan jakaa klassisiin menetelmiin, joihin kuuluvat Soxhlet- sekä ultraääni- ja ravistelumenetelmä, ja muihin menetelmiin, joihin kuuluvat paineistettu nesteutto, mikroaaltoavusteinen uutto, emulsiopohjainen uutto ja uutto ylikriittisellä hiilidioksidilla. Muihin kasvimatriiseihin on sovellettu myös matriisin dispersiota kiinteään faasiin, jossa matriisi jauhetaan sorbenttien kanssa. Tällä hetkellä ei ole tutkittu, soveltuuko menetelmä tyrniöljyjen uuttoon.^{14,15}

Kiinteä-nesteutossa rasvaliukoiset yhdisteet siirtyvät kiinteästä faasista nestefaasiin liuotinmolekyylien aiheuttamien dispersiivoimien vaikutuksesta. Uutettava aine jakaantuu faasien välille suhteessa, joka riippuu esimerkiksi käytetyistä liuottimista. Osa uutettavasta aineesta jää käytännössä aina alkuperäiseen faasiin.

Monet poolittomat liuottimet ovat fossiilisiin raaka-aineisiin perustuvia. Elintarvikkeiden uuttoon käytetään usein heksaania, koska sillä on alhainen kiehumispiste, hyvät uudelleenkäyttömahdollisuudet, hyvä öljyjen liuotusteho ja halpa hinta.¹⁶ Heksaani on kuitenkin myös terveydelle haitallinen: hengitettynä se aiheuttaa esimerkiksi neuropatiaa. Muut fossiilisiin raaka-aineisiin perustuvat orgaaniset liuottimet ovat usein vielä haitallisempia. Orgaanisten liuottimien käyttö uutossa voi johtaa liuotinjäämiin lopputuotteissa.¹⁷

Viime vuosikymmenien aikana on kehitetty muita uutomenetelmiä ja liuottimia: ylikriittinen nesteuutto, uusiutuvista raaka-aineista tuotetut liuottimet, tai kasviöljy, jonka tehokkuutta parannetaan esimerkiksi mikroaalloilla tai ultraäänellä. Näitä vihreitä uutomenetelmiä käyttämällä ympäristö- ja terveyshaitat lievenevät, koska uusiutuvuus paranee ja liuotinjätteet eivät tuota yhtä suurta ongelmaa.¹⁷ Kuvassa 2 verrataan yhtä vihreää uutomenetelmää, hiilidioksidiuuttoa, uuttoon heksaanilla.



Kuva 2. Puristeöljyn uutto heksaanilla verrattuna ylikriittiseen hiilidioksidiuuttoon. Tehty lähteiden ¹⁷⁻¹⁹ pohjalta.

Vihreiden liuottimien käyttö parantaa myös työturvallisuutta moniin klassisiin orgaanisiin liuottimiin verrattuna. Monet vihreät uutomenetelmät ovat paitsi ekologisesti kestäviä, myös taloudellisesti toimivia.^{17,20}

2.3. Soxhlet-uutto

Soxhlet-uutto on laboratoriomittakaavan menetelmä, jossa liuotinta kierrätetään uutettavan materiaalin läpi. Näyte asetetaan paperiseen astiaan, jonka päälle tippuu liuotinta palautusjäähdyttimestä. Näyteastian yhteydessä on putki, jonka kautta uute kulkee alla olevaan kolviin. Tämän jälkeen kiehuva liuotin nousee jälleen palautusjäähdyttimeen. Kolvin sisällä olevan liuottimen uutekonsentraatio nousee, kunnes näytteestä ei enää voida uuttaa kemikaaleja tai uutto keskeytetään.²¹

Soxhlet-uutto on helppo tapa uuttaa monenlaisia yhdisteitä kiinteästä matriisista. Uuttotavan heikkoudet ovat sen pitkä kesto ja se, että liuottimen höyrystämiseen

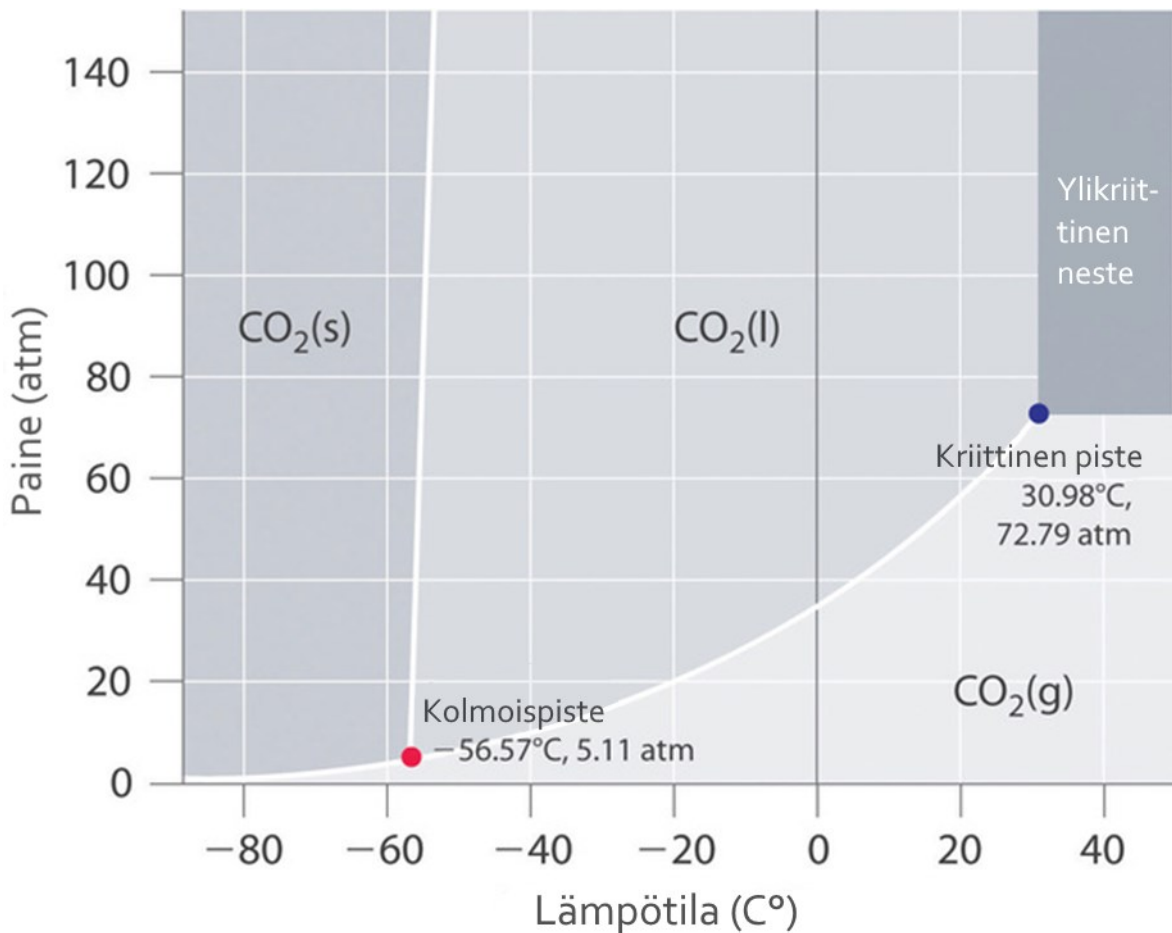
tarvittava lämpö saattaa hajottaa vähemmän kestäviä orgaanisia yhdisteitä. Korkea uuttolämpötila vaikuttaa vähentävän ainakin karotenoidien määrää myös tyrniöljyutteessa.²²

Soxhlet-menetelmällä pystytään lähes täyteen saantoon uutossa. Sen takia sitä käytetään vertailukohteena muiden uuttomenetelmien saantoa tarkkailtaessa. Tyrnin tapauksessa muut menetelmät toimivat kuitenkin joskus Soxhlet-uuttoa paremmin. Esimerkiksi Xu työryhmineen pääsi 125,6 % optimisaantoon tokoferoleille ylikriittisessä nesteuutossa. Soxhlet-uutossa käytetty lämpötila luultavasti tuhosi osan vertailukohteena käytetyn uutteen tokoferoleista.²³

2.4. Ylikriittinen nesteutto

Ylikriittinen neste on liuotin, jolla on sekä kaasun että nesteen ominaisuuksia. Sitä tuotetaan korottamalla paine ja lämpötila aineelle ominaisen kriittisen pisteen yläpuolelle (kuva 3). Painetta ja lämpötilaa muuntelemalla voidaan muuttaa ylikriittisen nesteen liuotinominaisuuksia. Ylikriittisen nesteen liuotusteho riippuu sen tiheydestä.¹⁹

Ylikriittisenä liuottimena puristeöljyn uuttamisessa käytetään lähes aina hiilidioksidia. Tämä johtuu hydrofobisten yhdisteiden, puristeöljyn tapauksessa ainakin rasvahappojen, sterolien, karotenoidien ja tokoferolien, hyvästä liukoisuudesta poolittomaan hiilidioksidiin.¹⁹



Kuva 3. Hiilidioksidin faasidiagrammi. Muokattu lähteestä ²⁴.

Ylikriittisen hiilidioksidiuuton lämpötila on tyypillisesti 30–60°C:n välillä. Muihin uuttoteknikoihin verrattuna alhainen lämpötila on sopiva, koska osa tyrnin puristeöljyn sisältämistä bioaktiivisista yhdisteistä on termolabiileja. Hiilidioksidin biologinen inerttiys tekee myös uuttoprosessista turvallisemman operaattorille. Liuotin voidaan poistaa lopputuotteesta yksinkertaisesti laskemalla paine ilmakehän paineen tasolle.¹⁹

Pradon ja työryhmän mukaan ylikriittisen hiilidioksidin käyttö uutossa on taloudellisesti kannattavaa, koska saannot yleisesti kasvavat mittakaavan kasvaessa.²⁰ Tutkimuksen nykytilassa on kuitenkin vaikeaa arvioida, kuinka pienet muutokset uuttomenetelmissä vaikuttaisivat saantoon teollisessa mittakaavassa.

Ylikriittisen hiilidioksidiuuton voi yhdistää myös muiden menetelmien kanssa. Dienaité työryhmineen tutkivat puristeen vesiliukoista fraktiota vuonna 2020. Jauhetusta ja kuivatusta puristeesta poistettiin ensin öljy ylikriittisellä

hiilidioksidiuutolla. Tyydyttävään saantoon puristeöljylle päästiin virtausnopeudella 2 l/min, paineessa 35 MPa, lämpötilassa 60 °C ja uuttoajassa 810 min. Ylikriittisestä hiilidioksidiuutosta jäljelle jäänyt kiintoaine uutettiin vedellä ja etanolilla. Sekä vesi-että etanoliuutteessa nähtiin antioksidanttisia ja syöpäsolujen kasvamista vastustavia vaikutuksia. Myös puristeöljyn uuttamisesta jäljelle jäävää sivutuotetta voitaisiin siis valorisoida.²⁵

Ylikriittisen uuton tehokkuuteen vaikuttavat uuttoaika, paine, liuottimen virtausnopeus ja lämpötila. Derevich ja Shindyapkin tutkivat näiden muuttujien vaikutusta tyrnin siementen hiilidioksidiuuton kulkuun. Virtausnopeutta mitattiin välillä 10,5–57 l/h, painetta välillä 8–60 MPa, lämpötilaa välillä 35–65 °C ja uuttoaika oli maksimissaan 200 minuuttia. Virtausnopeudessa 1/h tarkoittaa hiilidioksidin massavirtausta jaettuna näytteen massalla. Virtausnopeuden muutokset vaikuttivat uuttoon enemmän kuin paineen muutokset, jotka vaikuttivat enemmän kuin lämpötilan muutokset. Parhaimmillaan noin 95 % uuttotehokkuuteen päästiin 90 minuutissa lämpötilassa 65 °C, paineella 48 MPa ja virtausnopeudella 57 l/h.⁷

Xu työryhmineen tutkivat ylikriittisen hiilidioksidiuuton muuttujia vastepintamenetelmällä. Malleissa otettiin huomioon uuttoon vaikuttavat muuttujat (virtausnopeus, paine, lämpötila ja uuttoaika) ja saannot öljylle, tokoferoleille sekä karotenoideille. Mallien perusteella valittiin muuttujille optimiarvot, joissa yhdistyvät hyvät saannot ja mahdollisimman pienet arvot uuton muuttujille. Nämä arvot olivat: virtausnopeus 17 L/min, paine 27,6 MPa, lämpötila 34,5 °C ja aika 82 min. Öljyn, tokoferolien ja karotenoidien uuttotehokkuudet Soxhlet-uuttoon verrattuna olivat 96,5 %, 125,6 % ja 98,7 %.²³

2.5. Paineistettu nesteuutto

Paineistetussa nesteuutossa uutto orgaanisella liuottimella tehdään korkeassa lämpötilassa ja paineessa. Liuottimen viskoosisuus ja pintajännitys laskevat lämpötilan vaikutuksesta samalla kun uutettavien kemikaalien diffuusionopeus kasvaa.²⁶ Korkea paine johtaa liuottimen tihentymiseen, joka nopeuttaa uuttamista entisestään.

Dienaité työryhmineen suorittivat paineistetun nesteuuton tyrnijuuhelle, joka oli tehty koko marjasta. Liuottimina käytettiin vettä ja etanolia, koska ne ovat ympäristöystävällisiä ja tarkoituksena oli uuttaa poolisia yhdisteitä. 10 grammaan jauhetta lisättiin 4 grammaa piimaata ja uutettiin 66 ml uuttokennossa paineessa 10,3 MPa, lämpötilassa 70 °C (etanoli) tai 120 °C (vesi). Staattinen uuttoaika oli 15 min / uuttokerta, ja uuttoa toistettiin kolmesti. Fenolisten aineiden kokonaissaanto oli 7,87 mg/g kuivaa jauhetta.²⁵

2.6. Mikroaaltoavusteinen uuttoa

Mikroaaltoavusteisessa uutossa matriisi hajotetaan mikroaalloilla. Mikroaallot kuumentavat ja tuhoavat soluseinämiä, mikä vapauttaa niiden sisällä olevia uutettavia yhdisteitä. Menetelmä on nopea, ja sillä voidaan vähentää tarvittavan liuottimen määrää. Mikroaaltoavusteista uuttoa rajoittaa se, että liuottimen tai matriisin täytyy pystyä absorboimaan mikroaalloja. Käytännössä tämä sulkee pois kaikki puhtaat poolittomat liuottimet kuten heksaanin tai kasviöljyn. Uuton tehokkuutta poolittomilla liuottimilla voidaan kuitenkin parantaa käyttämällä pientä määrää poolista liuotinta apuaineena.¹⁹

Sharma työryhmineen tutkivat tyrnin fenolisten yhdisteiden uuttoa mikroaalloilla. He vertasivat sitä Soxhlet-, ultraääni- ja murskausmenetelmiin. Liuottimena käytettiin absoluuttista etanolia. Mikroaaltoavusteisessa uutossa paras saanto oli 9,3 mg fenolisia uuteaineita / g kuivaa jauhetta. Siihen päästiin 20 minuutissa 150 W:n teholla ja 60 °C:n lämpötilassa. Myös antioksidanttinen aktiivisuus oli korkeampi mikroaaltoavusteisesti saaduilla uutteilla. Ultraääni- ja murskausmenetelmä tuottivat uutteita pienemmällä saannolla ja matalammilla fenolipitoisuuksilla sekä aktiivisuusarvoilla. Soxhlet-menetelmällä saanto oli suurempi, mutta uute sisälsi vähemmän fenolisia uuteaineita.⁵

2.7. Muut uuttomenetelmät

Ultraäänialloilla voidaan tehostaa uuttoa. Ultraääniauutossa liuottimeen sekoitettu kiinteä matriisi hajotetaan ultraäänen avulla. Ääniaallot voidaan tuottaa laboratoriossa joko uuttoaastiaan asetettavalla lähettimellä tai ultraäänihauteella.²⁶ Jopa heikon uuttotehokkuuden liuottimia, kuten toisia kasviöljyjä, voidaan käyttää ultraääniauuttoa. Kasviöljyyn liukenee esimerkiksi terveyttä edistävää β -karoteenia,

kun ultraääni vapauttaa sitä tyrnipuristeen matriisista. Lopputuotteena on öljy, jonka ravinteellisia ominaisuuksia on parannettu.¹⁸

Ravistelumenetelmä tarkoittaa mekaanisen ravistelun käyttöä uutossa. Tyypillisesti liuotin erotetaan kiintoaineesta ja prosessi toistetaan muutamia kertoja uudella liuottimella.²⁶

Murskausmenetelmässä kasvimatriisi hajotetaan mekaanisesti. Kuten ultraäänIUutossa, matriisi sekoitetaan liuottimeen ennen sen hajottamista. Mekaaninen murskaus on hitaampaa ja vähemmän tehokasta kuin ultraäänen käyttö.¹⁸

Kanssaliuottimen käyttö ylikriittisen hiilidioksiduuton aikana on uusi tekniikka, joka yhdistää ylikriittisen uuton ja paineistetun liuotinuuton. Menetelmässä käytetään liuotineseosta, jossa on osa hiilidioksidia ja osa vettä, etanolia tai muuta poolista liuotinta. Sekoitussuhdetta voidaan vaihdella riippuen uutettavien yhdisteiden poolisuudesta. Kanssaliuottimen käytön etu on se, että sekä poolittomia että poolisia yhdisteitä voidaan uutaa samaan aikaan.²⁷

2.8. Yhteenveto uuttomenetelmistä

Tutkituimmat uuttoliuottimet tyrnipuristeelle ovat heksaani ja ylikriittinen hiilidioksidi. Heksaani on fossiilisiin raaka-aineisiin perustuva liuotin, jolla on haitallisia terveys- ja ympäristövaikutuksia. Ylikriittinen nesteuutto hiilidioksidilla on vähintään yhtä tehokas menetelmä tyrnipuristeen rasvaliukoisten yhdisteiden uuttamiseen. Ylikriittiseen nesteuuttoon käytettävä laitteisto kuitenkin maksaa enemmän. Muita uuttomenetelmiä ovat paineistettu nesteuutto, entsyymiavusteinen uutto, mikroaaltoavusteinen uutto, emulsiopohjainen uutto ja ultraäänIUutto. Taulukossa 1 on esitetty jokainen tässä luvussa käsitelty uuttomenetelmä.

Taulukko 1. Uuttomenetelmien yhteenveto.

Uuttomenetelmä	Ominaisuuksia	Huomiot
Soxhlet-uutto ²⁶	Laboratoriomenetelmä, jolla voidaan uuttaa lähes kaikki näytteen uutettavat kemikaalit.	Pelkkä laboratoriomenetelmä.
Hiilivetyuutto (heksaani) ^{16,17}	Vanhin ja edelleen käytetyin uuttomenetelmä tyrnipuristeelle.	Edullinen laitteisto ja hyvät saannot. Liuottimet ovat uusiutumattomia ja haitallisia. Heksaania ei saada aina kokonaan pois uutteesta. ¹⁷
Ylikriittinen nesteuutto ^{7,19,23}	Menetelmällä saadaan hyvä saanto öljyille uusiutuvilla liuottimilla, esimerkiksi hiilidioksidilla.	Turvallinen, ei aiheuta liuotinjätettä. Kalliimpi kuin hiilivetylaitteisto.
Paineistettu nesteuutto ^{26,27}	Liuottimen tehokkuutta lisätään paineen avulla.	Tehokkaampi, mutta kalliimpi kuin normaalipaineessa tapahtuva uutto.
Entsyymiavusteinen uutto ⁶	Käytetystä massasta voidaan uuttaa lisää hyödyllisiä ainesosia entsyymien avulla.	
Ylikriittinen uutto & kanssaliuotin ²⁷	Ylikriittisellä hiilidioksidilla voidaan parantaa poolittomien yhdisteiden uuttoa uusiutuvilla orgaanisilla liuottimilla.	
Mikroaaltoavusteinen uutto ^{5,28}	Mikroaallot tuhoavat soluseinämiä ja vapauttavat uutettavia yhdisteitä. Etupäässä poolisille yhdisteille soveltuva menetelmä.	Ei voida käyttää kokonaan poolittomia liuottimia.
Emulsiopohjainen uutto ²²	B-sitosterolin ja karotenoidien uutossa päästään hyvään saantoon emulsiopohjaisella uutolla.	

3. TYRNIPURISTEEN RASVALIUKOISTEN YHDISTEIDEN UUTTO

3.1. Rasvahappojen uutto

Taulukossa 2 verrataan puristeöljyä, kaupallisesti saatavilla olevaa kylmäpuristettua öljyä ja siemenöljyä. Verrattujen öljyjen rasvahappojen pitoisuudet on koottu kolmesta eri lähteestä. Kylmäpuristettu tyrniöljy oli kaupalliselta tuottajalta, eikä sen raaka-aineena käytettyä tyrnin osaa tunnettu. Siemenöljy tehtiin kuivatun marjapuristeen siemenistä Soxhlet-uutolla käyttäen petrolieetteriä liuottimena. Öljyjen koostumusanalyysi suoritettiin kaikissa tutkimuksissa kaasukromatografialla. Ennen analyysiä rasvahapot muutettiin metyyliestereiksi.^{8,29,30}

Taulukko 2. Tyrniöljyjen rasvahappopitoisuudet

Rasvahappo	Puristeöljy ⁸		Kaupallinen öljy ²⁹	Siemenöljy ³⁰
	SFE*	Soxhlet		
Saanto, %	16,99 ± 0,15 %	20,78 ± 0,10 %	-	-
Myristiinihappo	0,2 ± 0,02 %	0,17 ± 0,01 %	-	-
Palmitiinihappo	13,40 ± 0,43 %	12,57 ± 0,53 %	31,7 ± 0,8 %	13,13 %
Steariinihappo	2,57 ± 0,42 %	2,63 ± 0,12 %	-	6,63 %
Arakidihappo	0,53 ± 0,08 %	0,44 ± 0,04 %	-	-
Tyydyttyneet yht.	16,67 ± 0,22 %	15,80 ± 0,13 %	33,50 %	19,76 %
Myristoleiinihappo	0,10 ± 0,005 %	0,09 ± 0,002 %	-	-
Palmitoleiinihappo	9,05 ± 0,32 %	7,76 ± 0,38 %	29,4 ± 1,2 %	2,06 %
Oleiinihappo	12,09 ± 0,56 %	12,85 ± 0,69 %	21,3 ± 0,9 %	36,97 %
Yksinkertaisesti tyydyttymättömät yht.	21,24 ± 0,01 %	20,70 ± 0,30 %	51,0 %	39,03 %
Linoliyhappo (ω-6)	31,78 ± 0,35 %	31,54 ± 0,46 %	3,4 ± 0,2 %	25,81 %
Linoleenihappo(ω-3)	27,17 ± 0,69 %	25,01 ± 0,43 %	1,4 ± 0,0 %	14,07 %
Monityydyttymättömät yht.	58,94 ± 0,32 %	56,54 ± 0,13 %	5,2 %	39,88 %

*SFE: Ylikriittinen hiilidioksidiuutto

Tuloksista nähdään, että muut öljyt eroavat merkittävästi puristeöljystä. Puristeöljyssä oli eniten monityydyttymättömiä ja vähiten tyydyttyneitä rasvahappoja. Kylmäpuristetussa öljyssä oli verrattain paljon tyydyttyneitä ja yksinkertaisesti tyydyttyneitä rasvahappoja. Siemenöljyssä oli vain hieman puristeöljyä enemmän tyydyttyneitä rasvahappoja ja sen rasvahappopitoisuudet olivat muuten kahden muun öljyn välillä.

Palmitoleiinihappoa on todettu olevan hyvin paljon tyrnin puristeöljyssä ja vähän sen siemenöljyssä, ja puristeen palmitoleiinihapon pitoisuuden vaihtelevan paljon kasvupaikan mukaan. Siemenöljy sisältää enimmäkseen oleiinihappoa, linolihappoa sekä linoleenihappoa. Yang ja Kallio määrittivät tyydyttyneiden ja tyydyttymättömien rasvahappojen suhteeksi noin 2 : 5 marjan pehmeissä osissa.³¹ Tuntematon öljy voisi siis olla pehmeistä osista uutettua öljyä, koska sen vastaava suhde on noin 1,9 : 5. Puristeöljyn pienen palmitoleiinihappopitoisuuden ja korkeat monitydyttymättömien rasvahappojen pitoisuudet voisi selittää se, että puriste sisältää sekä siemeniä että pehmeitä osia. Kasvuolosuhteet vaikuttavat myös paljon rasvahappopitoisuuksiin, ja puristetun marjan siemenissä on voinut olla enemmän monitydyttymättömiä rasvahappoja kuin niissä, joista siemenöljy oli uutettu.³¹

Ylikriittinen nesteutto tuotti vähemmän öljyä Soxhlet-uuttoon verrattuna (Taulukko 2), mutta öljy sisälsi enemmän rasvahappoja. Uutteiden saannot olivat 17 % puristeen painosta ylikriittisellä ja 21 % Soxhlet-uutolla. Nämä saannot ovat tyypillisiä tyrnipuristeelle.⁸

3.2. Tokoferolien ja sterolien uutto

Taulukossa 3 on esitetty ylikriittisellä hiilidioksiduutolla ja Soxhlet-uutolla saatujen puristeöljyjen tokoferoli- ja sterolipitoisuuksia. Ylikriittinen nesteutto tuotti uutetta, jolla oli korkeampi pitoisuus stigmasterolin ja tokoferolien suhteen lukuun ottamatta δ -tokoferolia. Merkittävä ero utteiden välillä oli α - β - ja γ -tokoferoleissa, stigmasterolissa ja β -sitosterolissa, joista vain β -sitosterolia oli Soxhlet-uutteessa merkittävästi enemmän.

Taulukko 3. Ylikriittisellä nesteuutolla ja Soxhlet-uutolla saatujen puristeöljyjen tokoferoli- ja sterolipitoisuudet (mg/100 g) uutteen massasta.⁸

Rakenne	Ylikriittinen nesteuutto	Soxhlet
α-tokoferoli	117,6±0,35	65,38±0,07
β + γ-tokoferoli	51,62±0,53	41,69±0,25
δ-tokoferoli	3,87±0,04	4,09±0,12
Tokoferolit yht.	173,1±0,34	111,2±0,99
Stigmasteroli	24,50±1,03	21,82±0,88
β-sitosteroli	441,7±0,20	514,5±0,83
Ergosteroli	4,74±0,11	4,12±0,12
Kolestan-3-oli	1,04±0,00	1,17±0,21
Kampesteroli	26,53±0,00	27,85±0,08
Sterolit yht.	498,51±2,1	569,5±1,89

3.3. Karotenoidien uutto

Karotenoidien pitoisuus tyrniöljyssä vaihtelee paljon kyseessä olevan marjan osan¹ ja lajikkeen¹² mukaan. Taulukossa 4 on esitetty karotenoidien saannot sekä kuivatusta puristeesta että koko marjasta eri uuttomenetelmillä. Popin ja työryhmän tutkimuksessa karotenoidipitoisuus vaihteli 53 ja 97 milligramman / 100 g välillä riippuen marjan lajikkeesta.¹² Ylikriittinen hiilidioksiduutto on Xu:n ja työryhmän mukaan karotenoideille noin yhtä tehokas kuin Soxhlet-uutto.²³ Tsogtoo ja työryhmä tutkivat tyrnipuristeen emulsiopohjaista uutttoa, millä päästiin lyhyemmässä ajassa parempaan saantoon asetoniin verrattuna. Tutkimuksessa vertailtiin eri orgaanisia liuottimia ja öljyjen emulsioita. Muut tutkitut orgaaniset liuottimet olivat etanoli, kloroformi, etyyliasettaatti ja heksaani ja muut tutkitut öljyt soiijapapuöljy sekä MCT-öljy.²²

Taulukko 4. Karotenoidipitoisuus eri uuttomenetelmillä kuivatusta puristeesta ja koko marjasta.

Näyte	Saanto mg/100 g	Uuttomenetelmä
Kuivattu puriste	112	Asetoni, sekoitus ^{a,22}
	173	Emulsio, sekoitus ^{b,22}
Kuivattu marja	6,200	Ylikriittinen hiilidioksidi ²³
	6,283	Heksaani, Soxhlet ²³
	53–97	Sekoitus ^{c,12}

a: Sekoitettu 24 tunnin ajan, käsitelty ultraäänellä tunnin ajan ja sentrifugoitu tunnin ajan. b: Sekoitettu tunnin ajan rapsiöljyn ja veden emulsiossa lämpötilassa 65°C. c: Sekoitettu neljän tunnin ajan liuotinsöksessä (1–1–1; metanoli-etyyliasettaatti-petrolieetteri).

4. YHTEENVETO

Tyrnipuriste on mehun puristuksen sivutuote, joka sisältää monia bioaktiivisia yhdisteitä. Siitä uutettavan öljyn fytokeemikaaleja ovat esimerkiksi tyydyttymättömät rasvahapot, fytosterolit, tokoferolit ja karotenoidit. Öljyä uutetaan enimmäkseen heksaanilla, mutta uutto ylikriittisellä hiilidioksidilla on yhtä tehokas ja turvallisempi sekä ympäristöystävällisempi menetelmä. Kehitteillä on myös muita vihreitä uutomenetelmiä, kuten ultraääni-, mikroaalto- ja entsyymiavusteinen uutto, joilla on laboratoriossa saatu vähintään yhtä hyviä tuloksia kuin hiilidioksidiuutolla. Myös uusiutuvista raaka-aineista valmistettavien liuottimien käyttöä tyrnipuristeen uuttoon kehitetään. Uusiutuvista raaka-aineista voidaan tuottaa poolisia liuottimia, kuten etanolia ja etyyliasetaattia. Kasviöljy (esimerkiksi rypsi) on uusiutuva pooliton liuotin, mutta sillä saadaan hyvä saanto vain esimerkiksi ultraäänen avulla.

Tyrniöljyn kemiallinen koostumus vaihtelee paljon eri kasvinosien, lajikkeiden, lajien ja kasvupaikkojen välillä. Lisäksi uutomenetelmä voi vaikuttaa koostumukseen etenkin, kun uutto tapahtuu korkeassa lämpötilassa. Tokoferolit ovat lämpöherkkiä, joten niiden uutto Soxhlet-menetelmällä voi johtaa odotettua pienempään saantoon.

Rasvahappojen tyydyttyneisyys on hyvin erilaista marjan pehmeiden osien ja siementen välillä. Siementen ja puristeen rasvahapoista yli kolmasosa on monitydyttymättömiä ω -3 ja -6-rasvahappoja. Koko marjan kylmäpuristetun öljyn rasvahapoista monitydyttymättömiä on huomattavasti vähemmän, ja yksinkertaisesti tyydyttymättömiä ja tyydyttyneitä vastaavasti enemmän. Puriste sisältää tokoferoleista eniten α -tokoferolia ja steroleista β -sitosterolia. Karotenoidien suhteet riippuvat esimerkiksi kasvupaikasta ja lajikkeesta, mutta niistä eniten esiintyy zeaksantiinia, luteiinia ja β -karoteenia.

Marjapuristetta käytetään usein eläinten rehussa lisäravinteena. Puriste sopii kuitenkin myös ihmisravinnoksi, ja sitä voidaan jalostaa muun muassa öljyn uutolla. Myös uutosta jäljelle jäävä massa sisältää esimerkiksi fenolisia antioksidantteja ja väriaineita. Puristeen jalostus on kasvava ala, ja tehokkaampia uutomenetelmiä sekä uusia käyttökohteita tyrnin fytokeemikaaleille kehitetään jatkuvasti.

5. VIITTEET

- (1) Li, T. S. C.; Beveridge, T. H. J.; Canada, N. R. C. Sea Buckthorn (*Hippophae Rhamnoides* L.): Production and Utilization; NRC monograph publishing program; NRC Research Press, 2003.
- (2) Bal, L. M.; Meda, V.; Naik, S. N.; Satya, S. Sea Buckthorn Berries: A Potential Source of Valuable Nutrients for Nutraceuticals and Cosmeceuticals. *Food Research International* **2011**, *44* (7), 1718–1727. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2011.03.002>.
- (3) Vilas-Franquesa, A.; Saldo, J.; Juan, B. Potential of Sea Buckthorn-Based Ingredients for the Food and Feed Industry – a Review. *Food Production, Processing and Nutrition* **2020**, *2* (1), 17. <https://doi.org/10.1186/s43014-020-00032-y>.
- (4) Guo, N.; Lv, X.; Yang, Q.; Xu, X.; Song, H. Effective Removal of Hexavalent Chromium from Aqueous Solution by ZnCl₂ Modified Biochar: Effects and Response Sequence of the Functional Groups. *Journal of Molecular Liquids* **2021**, *334*, 116149. <https://doi.org/10.1016/j.molliq.2021.116149>.
- (5) Sharma, U. K.; Sharma, K.; Sharma, N.; Sharma, A.; Singh, H. P.; Sinha, A. K. Microwave-Assisted Efficient Extraction of Different Parts of *Hippophae Rhamnoides* for the Comparative Evaluation of Antioxidant Activity and Quantification of Its Phenolic Constituents by Reverse-Phase High-Performance Liquid Chromatography (RP-HPLC). *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **2008**, *56* (2), 374–379. <https://doi.org/10.1021/jf072510j>.
- (6) Kitrytė, V.; Povilaitis, D.; Kraujalienė, V.; Šulniūtė, V.; Pukalskas, A.; Venskutonis, P. R. Fractionation of Sea Buckthorn Pomace and Seeds into Valuable Components by Using High Pressure and Enzyme-Assisted Extraction Methods. *LWT - Food Science and Technology* **2017**, *85*, 534–538. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2017.02.041>.
- (7) Derevich, I. V.; Shindyapkin, A. A. Extraction of Organic Oil from Sea Buckthorn Seeds with Supercritical Carbon Dioxide. *Theoretical Foundations of Chemical Engineering* **2004**, *38* (3), 274–283. <https://doi.org/10.1023/B:TFCE.0000032189.87078.62>.
- (8) Dienaitė, L.; Baranauskienė, R.; Rimantas Venskutonis, P. Lipophilic Extracts Isolated from European Cranberry Bush (*Viburnum Opulus*) and Sea Buckthorn (*Hippophae Rhamnoides*) Berry Pomace by Supercritical CO₂ – Promising Bioactive Ingredients for Foods and Nutraceuticals. *Food Chemistry* **2021**, *348*, 129047. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2021.129047>.
- (9) Lichtenstein, A. H. Fats and Oils. Teoksessa *Encyclopedia of Human Nutrition*; Elsevier, 2013; ss. 201–208. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-375083-9.00097-0>.
- (10) Traber, M. G. Vitamin E | Metabolism and Requirements. Teoksessa *Encyclopedia of Human Nutrition (4. painos)*; Caballero, B., Toim.; Academic Press: Oxford, 2023; ss. 545–555. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-821848-8.00077-9>.
- (11) Lichtenstein, A. H. Hyperlipidemia: Prevention and Management. Teoksessa *Encyclopedia of Human Nutrition (3. painos)*; Caballero, B., Toim.; Academic Press: Waltham, 2013; ss. 453–461. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-375083-9.00147-1>.

- (12) Pop, R. M.; Weesepeol, Y.; Socaciu, C.; Pinteá, A.; Vincken, J.-P.; Gruppen, H. Carotenoid Composition of Berries and Leaves from Six Romanian Sea Buckthorn (*Hippophae Rhamnoides* L.) Varieties. *Food Chemistry* **2014**, *147*, 1–9. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2013.09.083>.
- (13) Dietary Reference Intakes for Vitamin C, Vitamin E, Selenium, and Carotenoids; National Academies Press: Washington, D.C., 2000. <https://doi.org/10.17226/9810>.
- (14) Rubio, L.; Lamas, J. P.; Lores, M.; Garcia-Jares, C. Matrix Solid-Phase Dispersion Using Limonene as Greener Alternative for Grape Seeds Extraction, Followed by GC-MS Analysis for Varietal Fatty Acid Profiling. *Food Analytical Methods* **2018**, *11* (11), 3235–3242. <https://doi.org/10.1007/s12161-018-1300-4>.
- (15) Gómez-Mejía, E.; Mikkelsen, L. H.; Rosales-Conrado, N.; León-González, M. E.; Madrid, Y. A Combined Approach Based on Matrix Solid-Phase Dispersion Extraction Assisted by Titanium Dioxide Nanoparticles and Liquid Chromatography to Determine Polyphenols from Grape Residues. *Journal of Chromatography A* **2021**, *1644*, 462128. <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2021.462128>.
- (16) Claux, O.; Rapinel, V.; Abert-Vian, M.; Chemat, F. Green Extraction of Vegetable Oils: From Tradition to Innovation. Teoksessa *Reference Module In Food Science*; Elsevier, 2023. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-823960-5.00027-5>.
- (17) Cravotto, C.; Fabiano-Tixier, A.-S.; Claux, O.; Abert-Vian, M.; Tabasso, S.; Cravotto, G.; Chemat, F. Towards Substitution of Hexane as Extraction Solvent of Food Products and Ingredients with No Regrets. *Foods* **2022**, *11* (21), 3412. <https://doi.org/10.3390/foods11213412>.
- (18) Chemat, F.; Périno-Issartier, S.; Loucif, L.; Elmaataoui, M.; Mason, T. J. Enrichment of Edible Oil with Sea Buckthorn By-Products Using Ultrasound-Assisted Extraction. *European Journal of Lipid Science and Technology* **2012**, *114* (4), 453–460. <https://doi.org/10.1002/ejlt.201100349>.
- (19) Weller, C. L.; Wang. Recent Advances In Extraction of Nutraceuticals from Plants. *Trends In Food Science & Technology* **2006**, *17* (6), 300–312. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2005.12.004>.
- (20) Prado, J. M.; Dalmolin, I.; Carareto, N. D. D.; Basso, R. C.; Meirelles, A. J. A.; Vladimir Oliveira, J.; Batista, E. A. C.; Meireles, M. A. A. Supercritical Fluid Extraction of Grape Seed: Process Scale-up, Extract Chemical Composition and Economic Evaluation. *Journal of Food Engineering* **2012**, *109* (2), 249–257. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2011.10.007>.
- (21) Harwood, L. M.; Moody, C. J. *Experimental Organic Chemistry : Principles and Practice*; Oxford : Blackwell Scientific, 1989.
- (22) Tsogtoo et al. Emulsion-Based Extraction of β -Sitosterol and Carotenoids from Sea Buckthorn (*Hippophae Rhamnoides*) Pomace. *International Food Research Journal* **2020**, *27* (1), 56–65.
- (23) Xu, X.; Gao, Y.; Liu, G.; Wang, Q.; Zhao, J. Optimization of Supercritical Carbon Dioxide Extraction of Sea Buckthorn (*Hippophae Rhamnoides* L.) Oil Using Response Surface Methodology. *LWT - Food Science and Technology* **2008**, *41* (7), 1223–1231. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2007.08.002>.
- (24) 12.4: *Phase Diagrams*. Chemistry LibreTexts. https://chem.libretexts.org/Bookshelves/General_Chemistry/Map%3A_Gener

- al_Chemistry_(Petrucci_et_al.)/12%3A_Intermolecular_Forces%3A_Liquids_And_Solids/12.4%3A_Phase_Diagrams_ (accessed 2023-04-10).
- (25) Dienaitė, L.; Pukalskas, A.; Pukalskienė, M.; Pereira, C. V.; Matias, A. A.; Venskutonis, P. R. Phytochemical Composition, Antioxidant and Antiproliferative Activities of Defatted Sea Buckthorn (*Hippophaë Rhamnoides* L.) Berry Pomace Fractions Consecutively Recovered by Pressurized Ethanol and Water. *Antioxidants (Basel)* **2020**, *9* (4), 274. <https://doi.org/10.3390/antiox9040274>.
- (26) Dean, J. R. *Extraction Techniques In Analytical Sciences*; John Wiley & Sons, 2010.
- (27) Pilařová, V.; Hamimi, S. A.; Cunico, L. P.; Nováková, L.; Turner, C. Extending the Design Space In Solvent Extraction – from Supercritical Fluids to Pressurized Liquids Using Carbon Dioxide, Ethanol, Ethyl Lactate, and Water In a Wide Range of Proportions. *Green Chemistry* **2019**, *21* (19), 5427–5436. <https://doi.org/10.1039/C9GC02140J>.
- (28) Périno-Issartier, S.; Zill-e-Huma; Abert-Vian, M.; Chemat, F. Solvent Free Microwave-Assisted Extraction of Antioxidants from Sea Buckthorn (*Hippophae Rhamnoides*) Food By-Products. *Food and Bioprocess Technology* **2011**, *4* (6), 1020–1028. <https://doi.org/10.1007/s11947-010-0438-x>.
- (29) Bialek, A.; Bialek, M.; Jelinska, M.; Tokarz, A. Fatty Acid Profile of New Promising Unconventional Plant Oils for Cosmetic Use. *International Journal of Cosmetic Science* **2016**, *38* (4), 382–388. <https://doi.org/10.1111/ics.12301>.
- (30) Kaushal, M.; Sharma, P. C. Nutritional and Antimicrobial Property of Seabuckthorn (*Hippophae* Sp.) Seed Oil. *Journal of Scientific and Industrial Research Vol.70(12) [December 2011]* **2011**.
- (31) Yang, B.; Kallio, H. P. Fatty Acid Composition of Lipids In Sea Buckthorn (*Hippophaë Rhamnoides* L.) Berries of Different Origins. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **2001**, *49* (4), 1939–1947. <https://doi.org/10.1021/jf001059s>.