



HELSINGIN YLIOPISTO
HELSINGFORS UNIVERSITET
UNIVERSITY OF HELSINKI

**Puuvillan indigovärjäys morsingolla (*Isatis tinctoria*)
Morsinkolajikkeen, uuttomenetelmän ja pelkistimen vaikutus
värjäystulokseen ja värinkeston**

Helsingin yliopisto
Käsityönopettajan koulutus
Pro gradu -tutkielma
Käsityötiede
Toukokuu 2020
Niina Niinimäki

Ohjaaja: Riikka Räisänen



Tiedekunta - Fakultet - Faculty Kasvatustieteellinen tiedekunta		
Tekijä - Författare - Author Niina Niinimäki		
Työn nimi - Arbetets titel Puu villan indigovärjäys morsingolla (<i>Isatis tinctoria</i>). Morsinkolajikkeen, uuttomenetelmän ja pelkistimen vaikutus värjäystulokseen ja värinkeston		
Title Dyeing cotton with woad (<i>Isatis tinctoria</i>). The effect of strain of woad, steeping and indigo reduction to color yield and fastness		
Oppiaine - Läroämne - Subject Käsityötiede		
Työn laji/ Ohjaaja - Arbetets art/Handledare - Level/Instructor Pro gradu -tutkielma / Riikka Räisänen	Aika - Datum - Month and year 05/2020	Sivumäärä - Sidoantal - Number of pages 67 s + 6 liites.
Tiivistelmä - Referat - Abstract Indigo on yksi ihmiskunnan tärkeimpiä sinisen värin lähteitä. Synteettistä indigoa valmistetaan öljyn jalostuksen sivutuotteista ja valmistusprosessissa käytetään ympäristölle haitallisia kemikaaleja. Luonnonindigo olisi synteettistä indigoa ekologisempaa, mutta sekään ei takaa ympäristöystävällistä värjäysprosessia, sillä indigon pelkistykseen käytetään usein natriumditioniittia, joka on ympäristölle haitallista. Tässä tutkimuksessa tarkastellaan puuvillan värjäystä morsingosta (<i>Isatis tinctoria</i>) saatavalla indigolla ja indigon pelkistämistä ympäristöystävällisillä sokereilla. Tavoitteena on löytää kotivärjäreille ja käsityöopetukseen sopiva ympäristöystävällinen värjäysmenetelmä. Indigon esiasteet eristettiin kolmesta eri morsinkolajikkeesta uuttamalla ne lämpimään veteen kolmella hieman toisistaan poikkeavalla menetelmällä. Indigo pelkistettiin vesiliukoiseen muotoonsa fruktoosilla ja glukoosilla, sekä vertailunäytteisiin natriumditioniitilla. Saaduilla väri liemillä värjättiin puuvillakangasta. Värjäystulosta tarkastellaan eri morsinkolajikkeiden, uuttomenetelmien ja pelkistimien suhteen. Lisäksi tarkastellaan värin vesipesun- ja hankauksen kestoa eri morsinkolajikkeilla, uuttomenetelmillä ja pelkistimillä. Pidempi uuttoaika ja lehtien pilkkominen paransivat selvästi värjäystulosta. Indigon lisäksi pilkotuilla lehdeillä ja pidemmällä uuttoajalla lisääntyi kuitenkin myös morsingossa olevien muiden väriaineiden määrä väri liemessä, sillä näytteet olivat vihreämpiä ja keltaisempia, kuin verrokkinsa. Vesipesussa nämä näytteet kuitenkin haalistuivat vähiten ja muuttuivat väri liemestä sinisemmäksi keltaisten väriaineiden peseytyessä pois. Lajikkeista parhaaseen värjäystulokseen päästiin MTT:n (nyk. Luonnonvarakeskus) vuoden 2002 riviväli- ja siemenmääräkokeesta peräisin olevalla lajikkeella. Pesun- ja hankauksen keston testeissä morsinkolajikkeilla ei ollut eroja. Indigon pelkistys onnistui sekä fruktoosilla että glukoosilla, mutta värjäystulokset olivat vaaleampia ja vähemmän sinisiä kuin natriumditioniitilla. Fruktoosin ja glukoo sin välillä ei värjäystuloksissa ollut merkittäviä eroja. Vesipesun keston testeissä fruktoosi sai sen sijaan hieman muita pelkistimiä parempia arvosanoja niin värin haalistumisen kuin tah riuudenkin osalta. Sokeripelkistys sopii siis hyvin sekä kotivärjäreille että käsityöopetukseen, mutta värjäystuloksen parantamiseksi morsingon lehdet kannattaa pilkkoa ja uuttaa lehtiä kuumassa vedessä (80 °C) puoli tuntia.		
Avainsanat - Nyckelord morsinko, indigo, luonnonindigo, värjäys, kyppivärjäys, puuvilla, uutto, pelkistys		
Keywords woad, indigo, natural indigo, dyeing, vat dyeing, cotton, indigo extraction, indigo reduction		
Säilytyspaikka - Förvaringsställe - Where deposited Helsingin yliopiston kirjasto – Helda / E-thesis (opinnäytteet)		
Muita tietoja - Övriga uppgifter - Additional information		



Tiedekunta - Fakultet - Faculty Educational Sciences		
Tekijä - Författare - Author Niina Niinimäki		
Työn nimi - Arbetets titel Puu villan indigovärjäys morsingolla (<i>Isatis tinctoria</i>). Morsinkolajikkeen, uuttomenetelmän ja pelkistimen vaikutus värjäystulokseen ja värinkeston		
Title Dyeing cotton with woad (<i>Isatis tinctoria</i>). The effect of strain of woad, steeping and indigo reduction to color yield and fastness		
Oppiaine - Läroämne - Subject Craft science		
Työn laji/ Ohjaaja - Arbetets art/Handledare - Level/Instructor Master's Thesis / Riikka Räisänen	Aika - Datum - Month and year 05/2020	Sivumäärä - Sidoantal - Number of pages 67 pp. + 6 appendices
Tiivistelmä - Referat - Abstract <p>Indigo is one of humanity's most important sources of blue color. Synthetic indigo is produced from oil refining by-products and uses chemicals that are harmful to the environment. Natural indigo would be more environmentally friendly, but it does not guarantee an environmentally friendly dyeing process, since sodium dithionite, which is environmentally harmful, is often used to reduce indigo. This study examines the dyeing of cotton with woad (<i>Isatis tinctoria</i>) and the reduction of indigo with environmentally friendly sugars. The goal is to find an environmentally friendly dyeing method suitable for home dyers and craft teaching.</p> <p>Indigo precursors were extracted from three different strains of woad by three slightly different steeping methods. Indigo was reduced to its water-soluble form with fructose and glucose, and control samples with sodium dithionite. The resulting indigo dye was used to dye cotton fabric. The color yield is considered in relation to the different strains of woad, extraction methods and reducing agents. In addition, the washing and abrasion resistance of the color with different strains of woad, extraction methods and reducing agents is examined.</p> <p>Longer extraction time and chopping of the leaves improved the dyeing result. However, in addition to indigo, chopped leaves and longer extraction time also resulted in increased amount of other colorants in the dye, as the samples were greener and more yellow than their controls. However, in laundering, these samples faded less than others and their color turned bluer as the yellow colorants washed away. Among the strains, the best color yield was obtained from the 2002 row spacing and seed quantity test conducted by the MTT Agrifood Research Finland (now known as the Natural Resources Institute Finland). There were no differences in the laundering and abrasion resistance tests between the woad strains. Indigo was successfully reduced with both fructose and glucose, but color yields were lighter and less blue than with sodium dithionite. There were no significant differences in color yield between fructose and glucose. Fructose scored slightly better than other reducing agents in laundering tests. Sugar reduction is thus well suited for both home dyeing and craft teaching, but to improve the coloring result, the woad leaves should be chopped and extracted in hot water (80 °C) for half an hour.</p>		
Avainsanat - Nyckelord morsinko, indigo, luonnonindigo, värjäys, kyyppivärjäys, puuvilla, uutto, pelkistys		
Keywords woad, indigo, natural indigo, dyeing, vat dyeing, cotton, indigo extraction, indigo reduction		
Säilytyspaikka - Förvaringsställe - Where deposited Helsinki University Library – Helda / E-thesis (theses)		
Muita tietoja - Övriga uppgifter - Additional information		



Sisällys

1	JOHDANTO.....	1
2	INDIGO	2
2.1	Synteettinen indigo	2
2.2	Indigokasvit.....	3
2.2.1	Morsinko.....	4
2.2.2	Väritatar.....	6
2.2.3	<i>Indigofera</i> -suvun kasvit.....	6
3	LUONNONINDIGON KEMIAA	7
3.1	Indigon erottaminen morsingon lehdistä	9
3.2	Indigon pelkistäminen	12
3.2.1	Natriumditioniitti.....	14
3.2.2	Sähkökemiallinen pelkistäminen.....	14
3.2.3	Biologinen pelkistäminen.....	15
3.2.4	Pelkistäminen sokereilla	16
4	VÄRI.....	19
4.1	CIELAB väriavaruus.....	19
4.2	Spektrofotometrinen värin mittaaminen.....	20
5	TUTKIMUSTEHTÄVÄ JA TUTKIMUSKYSYMYKSET.....	21
6	KOKEELLINEN TUTKIMUS KÄSITYÖTIETEESSÄ.....	21
6.1	Koeasetelma.....	23
6.2	Aineisto ja tutkimusmenetelmät	23
6.2.1	Indigon eristys morsingosta.....	25
6.2.2	Indigon pelkistys ja näytteiden värjääminen.....	28
6.2.3	Värjäystulosten mittaaminen.....	30
6.2.4	Värin vesipesun kesto	30
6.2.5	Värin hankauksen kesto	32
6.3	Mittausaineiston analysointi	33
7	TULOKSET JA NIIDEN TARKASTELU	34
7.1	Värjäystulokset	34
7.1.1	Uuttomenetelmät.....	36
7.1.2	Morsinkolajikkeet.....	39
7.1.3	Pelkistimet.....	43
7.2	Värinkesto-ominaisuudet	46



7.2.1 Värin vesipesun kesto	46
7.2.2 Värin hankauksen kesto	56
8 TUTKIMUKSEN LUOTETTAVUUS.....	59
9 POHDINTA.....	61
LÄHTEET	64
LIITTEET	

1 Johdanto

Indigo on ollut historiallisesti yksi ihmiskunnan tärkein sinisen värin lähde, ja erityisesti denimteollisuuden ansiosta se on sitä edelleen. Nykyään valtaosa tuotetusta indigosta on synteettistä, mutta ennen synteettisen indigon keksimistä 1800-luvun lopulla saatiin indigoa kasveista (Blackburn, Bechtold & John, 2009; Balfour-Paul, 2006, s. 81—87). Kasvipäristä indigoa saadaan muun muassa trooppisista *Indigofera*-suvun kasveista sekä väritattaresta (*Polygonum tinctorium*) ja morsingosta (*Isatis tinctoria*), jotka menestyvät viileämmissäkin olosuhteissa (Räisänen, Primetta & Niinimäki, 2015, s. 31—34; Balfour-Paul, 2006, s. 91—94). Synteettistä indigoa valmistetaan öljyn jalostuksen sivutuotteista. Kiinnostus luonnonindigoon on herännyt viime vuosina uudelleen samalla kun huoli ympäristön tilasta ja kestävästä kehityksestä on saanut jalansijaa, ja öljypohjaisille uusiutumattomille materiaaleille on pyritty löytämään uusiutuvia vaihtoehtoja. (Vuorema, 2008, s. 8—11.)

Luonnonindigon käyttäminen ei kuitenkaan yksistään takaa ympäristöystävällistä värjäysprosessia. Indigovärjäysprosessi on ns. kyypivärjäystä, jossa veteen liukenematon indigo pelkistetään ensin vesiliukoiseen muotoon, jotta se pääsee tunkeutumaan tekstiilikuituun. Tekstiili upotetaan tähän värittömään indigon leuko-muotoon, ja kun se sitten nostetaan pois liemestä, ilmassa oleva happi hapettaa leukoindigon jälleen veteen liukenemattomaan muotoon ja tekstiili saa sinisen värinsä (Räisänen ym., 2015). Historiallisesti indigo on pelkistetty käymisprosessia hyödyntämällä, mutta nykyään pelkistämässä käytetään pääasiassa natriumditioniittia ($\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_4$). Se on tehokas ja nopea pelkistäjä melko alhaisissakin lämpötiloissa ja lisäksi se on edullista. (Meksi, Ticha, Kechida & Mhenni, 2012.) Natriumditioniitti on kuitenkin ongelmallinen monin tavoin. Ensinnäkin se hapettuu helposti ilmakehän hapen vaikutuksesta ja se voi kuumentua ja syttyä ilman hapen ja kosteuden vaikutuksesta. Sen hajoamistuotteet pelkistysprosessissa ovat haitallisia ympäristölle ja voivat esimerkiksi syövyttää putkistoa. (Božič & Kokol, 2008). Viime aikoina onkin tehty runsaasti tutkimusta, jossa on etsitty ympäristöystävällisempiä pelkistysmenetelmiä indigovärjäykseen, kuten esimerkiksi sähkökemiallinen pelkistys tai pelkistys erilaisilla sokereilla korkeassa pH:ssa (mm. Vuorema 2008; Meksi ym., 2012; Shin, Choi & Yoo, 2014; Saikhao, Setthayanond, Karpkird & Suwanruji, 2017; Saikhao, Setthayanond, Suwanruji, Karpkird & Bechtold, 2018).

Tässä tutkimuksessa tarkastellaan ympäristöystävällisiä indigovärjäysprosesseja puuvillalle. Indigo eristetään tuoreista morsingon lehdistä uuttamalla ja pelkistetään sekä glu-

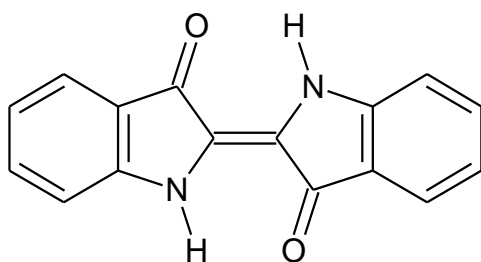
koosilla että fruktoosilla. Vertailunäytteet pelkistetään natriumditioniitilla. Saaduilla väri-
liemillä tehdään koevärjäykset puuvillakankaalle. Värjäystulokset mitataan spektrofoto-
metrisesti ja tuloksia verrataan niin morsinkolajikkeen, uuttomenetelmän kuin pelkistyk-
senkin suhteen. Lisäksi tarkastellaan värin vesipesun ja hankauksen kestoa eri lajik-
keilla, uuttomenetelmillä ja pelkistysmenetelmillä. Tavoitteena on löytää ympäristöystä-
vällinen indigovärjäysmenetelmä, joka sopii erityisesti kotivärjäreille ja käsityönope-
tukseen.

2 Indigo

Indigo on yksi vanhimmista ihmisen käyttämistä väriaineista. Kiehtovaa indigossa on se,
että toisin kuin monia muita kasvivärejä, indigoväriainetta ei saada kasvista suoraan,
joten sillä värjääminen on vaatinut erityistä osaamista ja taitoa. Indigo on kasveissa vä-
rittöminä esiasteina, joista se saadaan muutettua siniseksi väriaineeksi varsin monimut-
kaisten prosessien kautta. Moniin muihin kasviväreihin verrattuna indigo on myös värin-
kesto-ominaisuuksiltaan erinomainen. Erityisesti sen valonkesto-ominaisuudet ovat yli-
voimaiset, minkä vuoksi se onkin syrjäyttänyt kaikki muut sinistä väriä antavat väri-
kasvit (Räisänen ym., 2015, s. 31). Tämä tekikin indigosta harvinaisen ja arvostetun väri-
aineen, ”värien kuninkaan ja kuninkaiden värin”, kuten Cardon (2007, s. 335) kirjoittaa.

2.1 Synteettinen indigo

Vuonna 1883 saksalainen kemisti Adolf von Bayer onnistui selvittämään indigon eli indi-
gotiini-molekyylin kemiallisen rakenteen (kuva 1). Indigotiini on indigoväriaineen pääasi-
allinen sinisen värin lähde, ja usein tätä molekyyliä kutsutaankin yksinkertai-
sesti indigoksi. Määrätietoisien työn tuloksena 14 vuotta myöhemmin *Badische Anilin und*
Soda Fabrik (BASF) toi markkinoille synteettisen indigon kauppanimellä *Indigo Pure*, ja
niin tämä ”värien kuningas” saatiin maailmanlaajuisesti kaikkien ulottuville. (Cardon,
2007, s. 336; Balfour-Paul, 2006, s. 82—84.) Synteettistä indigoa valmistetaan öljyteol-
lisuuden sivutuotteena syntyvästä aniliinista (Vuorema, 2008, s. 8; Siitonen, 2010).



Kuva 1: Indigon eli indigotiini-molekyylin rakennekaavio. Indigotiini on pääasiallinen sini-
sen värin lähde indigossa.

Synteettinen indigo ei kuitenkaan 1900-luvun alussa syrjäyttänyt luonnonindigoa välittömästi, vaan niitä käytettiin pitkän aikaa rinnakkain, sillä monet värjäreit suhtautuivat synteettiseen indigoon varauksella. Alkuun BASF joutuikin jopa lisäämään synteettiseen indigoväriaineeseensa hajusteita, sillä luonnonindigoa käyttämään tottuneet värjäreit kaipasivat indigokasvien tuoksua. Tuoksun lisäksi synteettinen indigo eroaa luonnonindigosta myös värjäystuloksen suhteen. Vaikka synteettisen ja kasvipärisen indigon sininen väriaine, indigotiini, onkin kemialliselta rakenteeltaan identtinen, sisältää luonnonindigo lisäksi myös muita väriaineita ja epäpuhtauksia, jotka muuttavat värjäystulosta. Luonnonindigo sisältää muun muassa indirubiinia, joka on indigotiinin muodostumisen sivureaktionä syntävä punainen väriaine. Synteettinen indigoväriaine puolestaan on hyvin ”puhdasta”, joten se ei juurikaan sisällä indigotiinin lisäksi muita väriaineita tai epäpuhtauksia. Indigokasvien viljelijät vetosivatkin 1900-luvun alussa elinkeinoaan puolustaessaan näiden epäpuhtauksien, erityisesti indirubiinin, tärkeyteen syvän sinisen värjäystuloksen saavuttamiseksi. Vähitellen synteettinen indigo kuitenkin syrjäytti luonnonindigon laajalti, mutta luonnonindigoa käytetään edelleen muun muassa pienimuotoisessa värjäyksessä ja perinteisissä uskonnollisiin seremonioihin liittyvissä tarkoituksissa. (Balfour-Paul, 2006, s. 83—87.)

Vaikka synteettisen indigon kehittämisen jälkeen on keksitty myös lukuisia muita synteettisiä sinisiä väriaineita, on indigo säilyttänyt asemansa sen omaleimaisten ominaisuuksien vuoksi. Esimerkiksi indantreenisininen on erittäin hyvin pesua ja hankausta kestävä synteettinen sininen väriaine. Indigon luontainen heikkous, värin huono hankauksen kesto, kääntyi kuitenkin sen voitoksi denimkankaan ja siitä tehtyjen housujen, sinisten farkkujen, suosion myötä. Vain indigolla saadaan aikaan farkuille tyypillinen kulunut ulkonäkö, joka on miellyttänyt kuluttajia jo vuosikymmeniä. (Balfour-Paul, 2006, s. 87.)

2.2 Indigokasvit

Indigokasveja on viljelty eri puolilla maailmaa antiikin ajoista asti. Aiemmin ajateltiin, että indigovärjäyksen taito on peräisin tekstiilien alkukotina pidetystä Intiasta, mutta nykytutkimuksen mukaan indigovärjäysmenetelmiä keksittiin itsenäisesti eri puolilla maailmaa eri aikoina paikallisista indigokasveista (Balfour-Paul, 2006, s. 3—4). Vaikka indigoa tuottavia kasveja löytyy lukuisista eri kasvisuvuista ja niiden käsittely sen tuottamiseksi kasvimateriaalista vaihtelee, on kaikista näistä kasveista saatava sininen väriaine, indigotiini, kuitenkin kemialliselta rakenteeltaan täysin sama, samoin kuin myös synteettisellä indi-

goväriaineella (kuva 1). Indigon puhtaus, eli esimerkiksi indirubiinin ja muiden epäpuhtauksien määrä väriaineessa voi kuitenkin vaihdella eri lähteiden välillä runsaastikin. (Balfour-Paul, 2006, s. 84; Cardon, 2007, s. 338.)

Trooppisilla alueilla indigon tuotantoon viljeltiin *Indigofera*-suvun kasveja, erityisesti *Indigofera tinctoriaa*. Kiinassa ja Japanissa laajalti indigovärjäykseen viljelty kasvi oli väritatar (*Polygonum tinctorium*). Euroopassa puolestaan muodostui keskiajalla kukoistava teollisuudenala morsingon (*Isatis tinctoria*) viljelyn ja siitä saatavan indigoväriaineen tuotannon ympärille. Morsinkoteollisuus kukoisti aina 1600-luvulle saakka, jonka jälkeen se alkoi hiipua kauppareittien avauduttua ja trooppisen indigon markkinoille tulon myötä, ja lopullisesti synteettisen indigon keksiminen myötä. (Balfour-Paul, 2006, s. 89—94; Kokubun, Edmonds & John, 1997.) Sittenkin kiinnostus kasviperäisen indigon tuotantoon on kuitenkin herännyt uudelleen ja 1900-luvun lopulla ja 2000-luvun alussa perinteisten indigokasvien viljelyä on elvytetty mm. Euroopassa (Cardon, 2007, s. 366—386; Keskitalo & Vuorema, 2001; Angellini, Tozzi & Nassi O Di Nasso, 2004 ja 2007).

Indigofera-suvun kasvien, väritattaren ja morsingon lisäksi indigovärjäyksessä on käytetty paikallisesti myös lukuisia muita kasveja. Balfour-Paul (2006, s. 90—96) mainitsee mm. Länsi-Afrikassa viljellyn *Lonchocarpus cyanescensin*, Aasian vuoristoisilla alueilla (Kiinan keski- ja lounaisosat, Thaimaa, Myanmar, Koillis-Intia, Bhutan, Laos, Vietnam, Bangladesh ja Malakan niemimaan alue) kasvavan *Strobilanthes flaccidifoliuksen*, Kaakkois-Aasiassa viljellyn *Marsdenia tinctorian* sekä Intian etelä- ja keskiosista, Myanmarista ja Malakan niemimaan alueelta kotoisin olevan *Wrightia tinctorian*. Kolme ensiksi mainittua ovat kuitenkin merkittävimpiä laajamittaisessa luonnonindigon tuotannossa, joten nämä kasvit on syytä esitellä tarkemmin.

2.2.1 Morsinko

Morsinko (*Isatis tinctoria*) on kaksivuotinen ristikukkainen kasvi. Se on sukua mm. kaalille sekä rypsille ja rapsille. Ensimmäisenä vuonna se kasvattaa lehtiruusukkeen, joka muistuttaa hieman pinaatin lehtiruusuketta (kuva 2). Lehdet ovat kirkkaan vihreät, pitkulaiset ja kärkeä kohti kapenevat. Aikaisin toisena vuonna morsinko kasvattaa noin metrin korkuisen kukkavarren, jossa on hyvin pieniä keltaisia kukkia suurissa kukinnoissa. Suomessa kukat aukeavat yleensä kesäkuun alussa. Morsingon hedelmä on litteä ja pitkulainen litu, joka sisältää yhden siemenen. Kypsänä ne ovat ruskeita tai mustanpuhuvia. Indigon esiasteita muodostuu vain ensimmäisen vuoden lehtiruusukkeeseen. (Balfour-

Paul, 2006, s. 93; Cardon, 2007, s. 367; Keskitalo & Vuorema, 2005.) Nuorissa lehdissä indigon esiasteiden määrä on suurempi kuin vanhoissa (Kokubun ym., 1998).



Kuva 2: Morsingon (*Isatis tinctoria*) ensimmäisen vuoden lehtiruusuksia omassa kukkapenkissäni kesällä 2019.

Kaakkois-Aasiasta kotoisin oleva morsinko kasvaa luontaisesti kuivassa, kivikkoisessa tai hiekkaisessa maassa. Sitä on viljelty laajalti Euroopassa, missä se oli noin 1100-luvulta 1600-luvulle pääasiallinen indigoväriaineen lähde. Morsinkoa tavataan myös paikoin Pohjois-Afrikassa ja Aasiassa aina Turkista Keski-Aasian maiden sekä Himalajan alueille. Siirtolaiset veivät morsingon mukanaan myös Pohjois-Amerikkaan. (Cardon, 2007, s. 367; Oberthür, Graf & Hamburger 2004a.) Samaan *Isatis*-sukuun kuuluu myös kiinalainen morsinko *Isatis Indigotica*, joka kasvaa muun muassa Kiinan, Korean ja Japanin alueella (Cardon, 2007, s. 367). Kiinalaisessa morsingossa indigon esiasteiden määrä on suurempi kuin eurooppalaisessa morsingossa, mutta se on myös herkempi sään vaihteluille, erityisesti hallalle ja yöpakkasille, sekä hyönteisille kuin eurooppalainen morsinko (Balfour-Paul, 2006, s. 93; Angelini, Tozzi & Nassi O Di Nasso, 2007).

Morsingolla on syvä yltävä paalujuuri, joka on herkkä liialliselle märkyydelle, ja sitä tulisi siksi kasvattaa hyvin läpäisevässä, multavassa maassa (Keskitalo & Vuorema,

2005). Morsinko tuottaa paremman indigosadon, kun se saa riittävästi typpeä, joten riittävästä lannoituksesta kannattaa viljelyssä huolehtia. Muutaman vuoden viljelykierto on morsingolle hyväksi. Jo keskiajalla huomattiin, että kolmen vuoden morsingon viljelyn jälkeen maa tarvitsi pitkän lepokauden, sillä morsingon viljely köyhdytti maata pahoin. (Balfour-Paul, 2006, s. 99). Suomessa morsingosta saadaan tyypillisesti kaksi lehtisatoa, ensimmäinen heinä-elokuun vaihteessa ja toinen syyskuussa (Keskitalo & Vuorema, 2005). Italiassa tehdyn morsingon viljelykokeen mukaan lämmin ja aurinkoinen sää lisäsi morsingon lehtisatoa ja sen tuottamien indigon esiasteiden määrää. Valon määrä vaikutti indigon esiasteiden määrään lehdissä niin, että valoisimpaan aikaan kerätyssä sadossa esiasteita oli eniten. (Angelini ym., 2007).

2.2.2 Väritatar

Väritatar (*Polygonum tinctorium*, tunnetaan myös nimellä *Persicaria tinctoria*) on yksi- tai kaksivuotinen, subtrooppinen noin 30–80 cm korkea kasvi. Sillä on tummat sinivihreät lehdet, jotka kasvavat kierteisessä lehtiasennossa vihreistä tai lähes punaisista varsista. Röyhymäisesti kasvavien pienten kukkien väri vaihtelee valkoisesta tummaan pinkkiin. Pinkkikukkaisten lajikkeiden uskotaan tuottavan enemmän indigon esiasteita, kuin valkokukkaisten. (Balfour-Paul, 2006, s. 94; Cardon, 2007, s. 379; Angellini ym., 2004.)

Väritatar on kotoisin Vietnamin ja eteläisen Kiinan alueelta, ja lisäksi sitä on viljelty laajalti Japanissa ja Koreassa. Se viihtyykin kosteassa ja lämpimässä trooppisessa tai subtrooppisessa ilmastossa, mutta pärjää myös viileämmässä. Väritattaren viljely onnistuu myös lauhkealla ilmastovyöhykkeellä Euroopassa, missä sen viljelyä on kokeiltu muun muassa Ranskassa ja Italiassa. (Balfour-Paul, 2006, s. 94; Cardon, 2007, s. 380.) Kosteilla alueilla viihtyvänä subtrooppisena kasvina väritatar on kuitenkin herkkä kuivuudelle, mikä voi haitata viljelyä esimerkiksi Välimeren alueella (Angellini ym., 2004). Värjäyksessä väritatarta voidaan käsitellä samoin kuin morsinkoa, mutta se tuottaa huomattavasti enemmän indigoväriainetta kuin morsinko. Indigon esiasteet muodostuvat ainoastaan kasvin lehtiin. (Balfour-Paul, 2006, s. 94.)

2.2.3 *Indigofera*-suvun kasvit

Trooppiseen *Indigofera*-sukuun kuuluu lähes 800 eri kasvilajia, joista muutamissa on runsaasti indigon esiasteita. *Indigofera*-suvun kasveista tärkein ja eniten värjäyskäyttöön viljelty laji lienee *Indigofera tinctoria*. Se on monivuotinen pensas, joka voi hyvissä olosuhteissa kasvaa jopa 2 metriä korkeaksi. Sillä on suhteellisen suuret pareittain kasvavat lehdet ja pitkät ja kapeat joko suorat tai kaaren muotoiset siemenkodat. Siemenet ovat

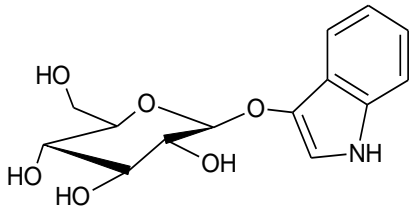
pieniä ja mustia, ja niitä onkin usein kuvailtu ruudin näköiseksi. (Balfour-Paul, 2006, s. 91—92.)

Indigofera-suvun värikasvien etuna on, että sukuun kuuluu useampia indigon esiasteita tuottavia lajeja, jotka viihtyvät hieman vaihtelevissa olosuhteissa. Niinpä *Indigofera*-kasveja on voitu viljellä laajalti trooppisella vyöhykkeellä ja subtrooppisen vyöhykkeen lämpimämmillä alueilla Aasiassa, Afrikassa ja Amerikassa, sillä eri kasvuolosuhteisiin on voitu valita niissä parhaiten menestyvät lajit. Tyypillisesti *Indigofera*-suvun kasvit viihtyvät lämpimässä ja ravinteikkaassa maassa. Indigon esiasteet sijaitsevat yksinomaan kasvin lehdissä. (Cardon, 2007, s. 354—358.)

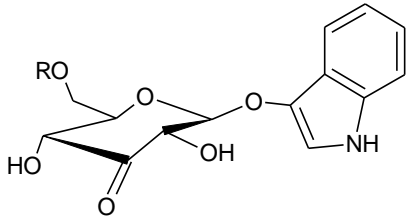
Indigon saanto vaihtelee suuresti eri *Indigofera*-lajien välillä, mutta yleisesti näistä kasveista saadaan selvästi enemmän indigoväriainetta kuin kylmemmillä alueilla viihtyvistä indigokasveista, kuten morsingosta ja väritattaresta. Nuorissa lehdissä on enemmän indigon esiasteita kuin vanhoissa ja erityisesti vanhan kasvin nuorissa lehdissä on enemmän indigon esiasteita kuin nuoren kasvin lehdissä. (Cardon, 2007, s. 359.) Aivan erityinen etu *Indigofera*-suvun kasveissa on, että niistä saatava indigoväriaine on voitu erottaa lehdistä ja kuivata tiiviiksi ja hyvin säilyviksi pigmenttikakuiksi, joka mahdollisti maailmanlaajuisen kaupankäynnin (Balfour-Paul, 2006, s. 92).

3 Luonnonindigon kemiaa

Indigon esiasteista ensimmäisinä tunnistettiin indikaani, joka on indoksyliin ja glukoosin muodostama glykosidi (kuva 3). Indikaani on *Indigofera*-suvun kasvien pääasiallinen indigon esiaste ja pitkään sen ajateltiin olevan ainoa indigon esiaste, jota olisi kaikissa indigokasveissa. Sittenkin huomattiin kuitenkin, että morsingossa indigon esiaste oli erilainen kuin *Indigofera*-suvun kasveissa. Tämä indigon esiaste nimettiin isataani B:ksi ja aina 2000-luvulle saakka ajateltiin, että Isataani B on morsingossa pääasiallinen indigon esiaste. Oberthür, Schneider, Graf ja Hamburger (2004b) selvittivät kuitenkin, että sekä eurooppalaisessa morsingossa (*Isatis tinctoria*), että kiinalaisessa morsingossa (*Isatis indigotica*) on kolmaskin indigon esiaste, isataani A (kuva 4), jota on näissä kasveissa selvästi enemmän, kuin isataani B:tä tai indikaania. Samalla myös isataani B:n rakenne tarkentui. (Cardon, 2007, s. 337—339; Kokubun ym., 1998; Gilbert, Hill, Crespo, Mas, Lewis., Rudolph & Cooke, 2000; Oberthür, ym., 2004b.)

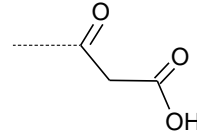


Kuva 3: Indikaanin rakennekaavio.



Isatani B : R = H

Isatani A : R =

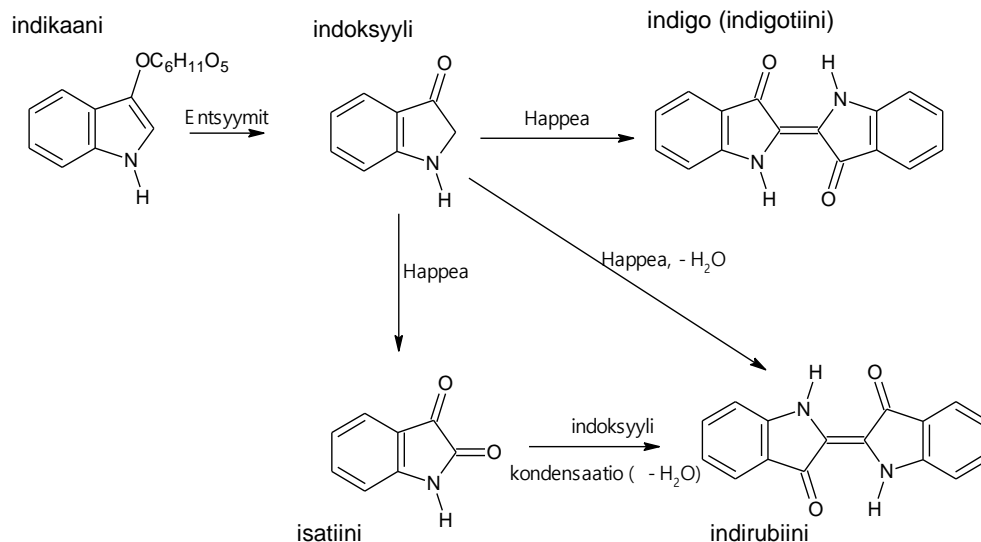


Kuva 4: Isatani A:n ja isatani B:n rakennekaavio.

Oberthürin ym. (2004a) tutkimuksessa selvitettiin indigon esiasteiden määriä ja suhteita pakastekuivatuissa morsingon lehdissä. Tutkimuksen mukaan isatani A:n määrä oli morsingolla noin 1,0—7,6 % lehtien kuivapainosta ja sen määrä näytti kasvavan kasvukauden edetessä niin, että myöhemmin kerätyissä lehdissä sitä oli enemmän. Isatani B:n määrä oli selvästi isatani A:ta vähäisempi, noin 0,4—2,3 % kuivapainosta. Myös isatani B:n määrä näytti hieman kasvavan kasvukauden edetessä. Isatani A:n ja B:n yhteismäärä morsingonlehdissä oli 2,5—8,8 % kuivapainosta. Morsingon lehdissä oli tutkimuksen mukaan myös indikaania, mutta sen osuus oli indigon esiasteista pienin, vain noin 0,2 - 0,9 % kuivapainosta. Isatani A:n osuus oli indigon esiasteista suurin läpi kasvukauden. Kesäkuussa kerätyissä näytteissä isatani A:ta oli 1—3 kertaa niin paljon kuin isatani B:tä ja kasvukauden lopussa isatani A:n osuus kasvoi entisestään niin, että sitä oli 5—10 kertaa niin paljon kuin isatani B:tä. Indikaanin määrää verrattiin tutkimuksessa isatani B:hen; isatani B:tä oli noin 2—3 kertaa niin paljon kuin indikaania, eikä lehtien keräysajankohta juurikaan vaikuttanut tähän suhteeseen. (Oberthür ym., 2004a.)

Riippumatta siitä, mitä indigon esiasteita kasvissa on tai missä suhteessa niitä on, käytännössä kaikki muuttuvat indigoksi samalla tavalla. Kun lehdet hajoavat, niissä olevat entsyymit vapautuvat ja aiheuttavat hydrolyysin, joka hajottaa indigon esiasteet, indikaanin, isatani A:n ja isatani B:n indoksyyliksi ja sokereiksi. Indigoa (indigotiinia) muodostuu, kun kaksi indoksyylimolekyyliä yhdistyy hapetuksen johdosta (kuva 5). Reaktion tehokkuus, eli se, kuinka paljon indigopigmenttiä saadaan, riippuu esiasteista ja entsyymeistä, joita reaktiossa on läsnä, sekä olosuhteista, joissa lehdet ovat (pH, lämpötila ja hapen määrä). Tietyissä olosuhteissa indoksyylistä voi muodostua isatiinia. Isatiinin ja

indoksyylin yhdistyessä syntyy punaista indirubiinia. Indirubiinin muodostumiseen vaikuttavia tekijöitä ei vielä täysin tunneta. Siihen vaikuttaa kuitenkin ainakin pH ja lämpötila, sillä heikko emäksisyys ja korkea lämpötila näyttäisi edistävän indirubiinin muodostumista. (Cardon, 2007, s. 338—339.) Indirubiinin käyttöä punaisena väriaineena rajoittaa sen huono valon kesto (Stoker, Cooke & Hill, 1998). Luonnonindigossa indirubiinia on kuitenkin aina mukana, mikä antaakin sille hieman synteettisestä indigosta poikkeavan värin (Balfour-Paul, 2006, s. 84).



Kuva 5: Indigon (indigotiinin) ja indirubiinin muodostuminen indikaanista. Reaktio on sama myös Isataani A:n ja B:n tapauksessa. (Cardon, 2007, s. 338.)

3.1 Indigon erottaminen morsingon lehdistä

Perinteisesti morsingon lehdet murskattiin sadonkorjuun jälkeen hienoksi lehtimassaksi ja muotoiltiin palloiksi, jonka halkaisija oli noin 10—12 cm. Lehtipallojen annettiin sitten kuivua neljästä kuuteen viikkoa. Indigoväriaine muodostui morsinkopalloissa kuivatuksen aikana. Murskatuista lehdistä vapautuvat entsyymit muuttivat indigon esiasteita indoksyyliksi, joka taas hapettui indigoksi. Kuivattuina palloina indigoväriaine säilyi hyvin ja oli helppo kuljettaa. Värjäystä varten morsinkopalloista valmistettiin käymiskyyppi: palloja murskattiin, niihin lisättiin vettä ja annettiin käydä muutamien viikkojen ajan. Väriä valmistettiin tästä käyneestä lehtimassasta. (Balfour-Paul, 2005, s. 104—106; Cardon, 2007, s. 369—370; Blackburn ym, 2009.)

Perinteinen indigon eristys morsingosta ei ole kovin tehokasta, sillä se on hidas menetelmä ja se vaatii lämpötilan pysymisen melko korkeana pitkän aikaa. Lisäksi menetelmä on nykyvärjäriin vaatimuksiin ”likainen” ja tuottaa myös melko ikäviä hajuhaittoja. (Stoker

ym., 1998.) Nykyään indigo pyritäänkin eristämään lehdistä uuttamalla sen esiasteet veteen ja muuttamalla ne sitten indigoksi liemen pH:ta nostamalla ja hapettamalla.

Morsingossa olevat pääasialliset indigon esiasteet isataani A ja isataani B ovat hyvin epästabiileja yhdisteitä ja ne alkavat hajoamaan sokereiksi ja indoksyyliksi välittömästi, kun lehdet poimitaan, joten lehtiä ei voi kuivattaa ja säilöä (Stoker ym. 1998). Oberthür ym. (2004a) mittasivat indigon esiasteiden määrää eri tavoin kuivatuista morsingonlehdistä. Sekä huoneenlämmössä että 40 °C lämpötilassa kuivatuista lehdistä ei löytynyt lainkaan isataani A:ta tai B:tä. Sen sijaan nestemäisellä tyypellä jäädytetyissä, pakaste-kuivatuissa lehdistä isataani A:ta oli 10,7 % ja isataani B:tä 0,27 %. Kaikista kolmesta näytteestä löytyi indikaania, kuivatuista enemmän kuin pakastekuivatuista. Koska isataani A on kuitenkin morsingossa pääasiallinen indigon esiaste, ei lehtien kuivattamista voi suositella, vaan indigo tulisi eristää lehdistä mahdollisimman pian sadonkorjuun jälkeen. Perinteinen morsinkopallojen teko ja kuivatus eroaa tässä suhteessa kuitenkin tavallisesta kuivattamisesta. Kun lehdet jauhetaan ja muotoillaan palloiksi ennen kuivattamista, alkavat lehdistä vapautuvat entsyymit muuttaa indigon esiasteita indoksyyliksi, joka taas hapettuu indigoksi. Jos lehdet kuivatetaan kokonaisina, näitä reaktioita ei juurikaan tapahdu. (Oberthür ym. 2004a.)

Stoker ym. (1998) tutkivat indigon uuttamista morsingon lehdistä veteen eri lämpötiloissa. Lehtien vahapinta rikottiin ensin kiehuvan kuumalla vedellä, ja lämpötila laskettiin sitten uuttolämpötilaan (30 °C, 60 °C ja 90 °C), jossa se pidettiin koko uuton ajan. Koska isataani B on vakaampi happamissa olosuhteissa, uutokseen lisättiin 10 % suolahappoa (HCl) sen stabiloimikseksi. Lehtiä uutettiin pimeässä noin 17 tuntia, jonka jälkeen lämpötila laskettiin nopeasti 25 asteeseen, lehdet poistettiin, uutokseen pH nostettiin ammoniakilla 9 ja 10 välille ja sitä ilmastettiin pienellä kompressorilla. Uuttoliuksen lämpötilan valinta on ongelmallista, sillä liian korkeassa lämpötilassa indoksyylistä voi muodostua enemmän isatiinia, joka muuttuu indoksyylin kanssa reagoidessaan indirubiiniksi (Stoker ym. 1998, Cardon, 2007, s 338—339). Liian alhaisessa lämpötilassa taas entsyymit, jotka pilkkovat indoksyyliglukosidia indoksyylin muodostamiseksi, pysyvät aktiivisina ja indoksyyli muodostuu enneaikaisesti. Tutkimuksessa alhaisempi lämpötila tuotti kuitenkin eniten indigoa, ja 30-asteisella uutoksella saatu indigon määrä oli kertaluokkaa suurempi kuin 60- ja 90-asteisella uutolla saadut määrät. Toisaalta jo 5 minuutin uutto 100-asteisessa vedessä tuotti yhtä paljon indigoväriainetta, kuin 17 tunnin 30-asteinen uutto. Oletettavasti pitkä uuttoaika korkeassa lämpötilassa tuhosi indigoa. (Stoker ym., 1998.) Vuoreman (2008) väitöskirjatutkimuksessa käytettiinkin hyvin lyhyttä uuttoaikaa.

Morsingonlehtiä uutettiin 80-asteisessa deionisoidussa vedessä 8 minuuttia, jonka jälkeen lehdet poistettiin ja lämpötila laskettiin nopeasti huoneenlämpöiseksi.

Siitonen (2010) tutki teknillisen kemian diplomityössään monipuolisesti morsingon uuttolosuhteiden vaikutusta indigon saantoon. Uuttoja tehtiin kokonaisilla ja pilkotuilla lehdistä kolmessa eri lämpötilassa (40 °C, 60 °C ja 80 °C), puhtaalla vedellä, suolavedellä (NaCl-liuos) ja happamalla liuoksella (HCl, pH n. 2). Kokonaisuuttoaika oli tutkimuksessa 120 minuuttia, ja uutoksesta otettiin näytteitä uuton aikana yhteensä 13 kertaa. Lehtien pilkkominen ja lämpötilan nostaminen paransivat indigon saantoa. Pilkkominen kasvattaa nesteen ja kiinteän aineen välistä rajapintaa ja aineenvaihto näyttäisi olevan suurempaa leikkauspinnalta, jossa ei ole lehden suojaavaa vahapintaa (Siitonen, 2010). Kasvien rikkoutuessa lehdistä vapautuu myös entsyymejä, jotka hajottavat indigon esiasteita indoksyilyiksi (Kokobun ym. 1998). Hapan uuttoliuos myös paransi saantoa, suolan lisääminen uuttoveteen puolestaan huononsi sitä. Siitonen (2010) toteaa, että todennäköisesti huonompi indigon saanto suolaliuoksella johtui siitä, että koska uuttoveteen oli jo liuennut natriumkloridia, oli lehden ja uuttoveden välinen konsentraatioero pienempi kuin puhtaalla vedellä tai happamalla liuoksella. Hän jatkaa, että tässä tapauksessa uuttoveden kovuudella voi olla samansuuntaisia vaikutuksia.

Mielenkiintoinen tulos Siitosen tutkimuksessa oli, että 80 °C:een alkulämpötilalla puhtaassa vedessä ja suolavedessä uutettujen kokeiden indigon saannot alkoivat laskea 45 minuutin uuttoaajan jälkeen. Happamassa liuoksessa laskua ei tapahtunut. Indigon saannon heikkeneminen johtuu todennäköisesti epätoivottujen sivureaktioiden kasvusta. Happamassa liuoksessa indoksyylimolekyylit ovat stabiilimpia, jolloin sivureaktioita tapahtuu vähemmän. (Siitonen, 2010.) Tulos on jokseenkin yhteneväinen Stokerin ym. (1998) kanssa, jotka myös totesivat pitkän uuttoaajan korkeassa lämpötilassa heikentävän indigon saantoa, vaikkakin Stokerin ym. tutkimuksessa uuttoaajat olivat vielä selvästi pidempiä ja uuttoliuokset happamia.

Siitonen (2010) tutki lisäksi, onko uutoksen sekoittamisella vaikutusta indigon saantoon. Lehdet olivat pilkottuja. Erityisesti puhtaan veden tapauksessa lehtien sekoittaminen uuton aikana paransi selvästi indigon saantoa. Happamassa liuoksessa ero oli hyvin pieni. Huomionarvoista oli, että puhtaalla vedellä ja sekoittamisella päästiin lähes samaan indigonsaantoon kuin happamallakin liuoksella.

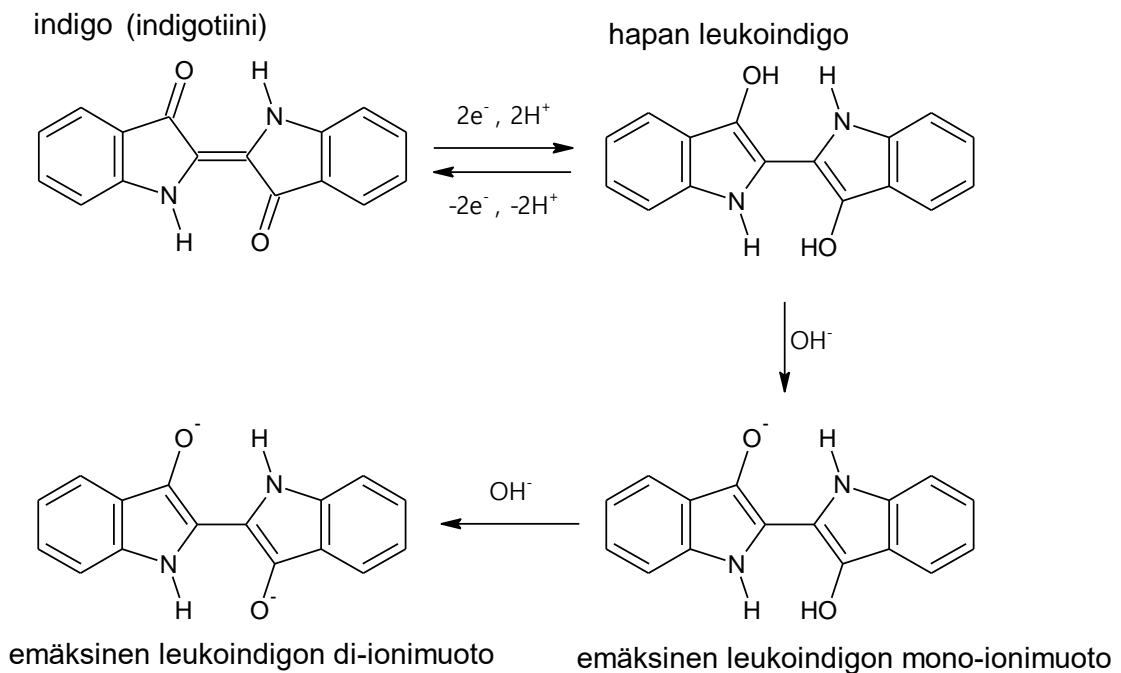
3.2 Indigon pelkistäminen

Koska indigoväriaine ei liukene veteen, ei sillä voi värjätä sellaisenaan, vaan värjäämisen täytyy tapahtua, kun se on vesiliukoisessa muodossaan. Käytännössä vaihtoehtoja on kaksi: värjätä indoksyylillä ennen kuin se on hapettunut indigoksi (indigotiiniksi) tai pelkistämällä indigo ennen värjäystä vesiliukoiseen muotoon. Tavallisesti indigoväriaine pelkistetään natriumditioniitin avulla emäksisissä olosuhteissa leukoindigoksi, joka on vesiliukoinen. (Cardon, 2007, s. 339—340.) Hapettumis-pelkistymisreaktiot ovat kemiallisia reaktioita, jossa elektroneja siirtyy aineelta toiselle. Aine, joka luovuttaa elektroneja, hapettuu ja aine, joka ottaa vastaan elektroneja, pelkistyy. Hapettumis- ja pelkistymisreaktiot liittyvät aina yhteen, sillä kun joku aine luovuttaa elektroneja ja hapettuu, on jonkin toisen aineen otettava vastaan luovutetut elektronit, eli pelkistytävä. Aineita, jotka itse hapettuvat, sanotaan pelkistimiksi, koska hapettuessaan ne luovuttavat elektroneja ja pelkistävät toisen aineen. Vastaavasti aineita, jotka itse pelkistyvät, sanotaan hapettimiksi. (Hannola-Teitto, Jokela, Leskelä, Näsäkkälä, Pohjakallio & Rassi, 2006a, s. 107.)

Indigo pelkistyy ensin emäksisessä liuoksessa happamaan leukomuotoon, joka on niukasti vesiliukoinen valkoinen aine, ja jota kutsutaan myös indigovalkoiseksi. Kun indigovalkoinen reagoi emäksen kanssa, se muuttuu emäksiseksi leukoindigoksi, joka on vesiliukoinen ja joka imeytyy selluloosakuituihin (kuva 6). Värjättävä tekstiili upotetaan vesiliukoiseen leukoindigoon, jolloin se pääsee tunkeutumaan tekstiilikuituun. Kun tekstiili nostetaan pois väriliemestä, ilmassa oleva happi hapettaa leukoindigon takaisin siniseksi veteen liukenemattomaksi indigoksi ja se jää kiinni kuituun. Teollisuudessa hapettaminen voidaan tehdä myös kemiallisesti vetyperoksidin avulla, jolloin hapettuminen tapahtuu nopeammin kuin ilmassa olevan hapen avulla. Voimakkaamman värin saamiseksi tekstiiliä voidaan upottaa väriliemeen ja hapettaa useita kertoja peräkkäin. (Cardon, 2007, s. 339—340; Blackburn ym., 2009.)

Väriliemen pH:lla on suuri merkitys indigoväriaineen imeytymisessä selluloosakuituun. Kun hapan leukoindigo reagoi emäksen kanssa, se muuttuu ensin emäksisen leukoindigon mono-ionimuotoon. Kun emästä lisätään edelleen, leukoindigo muuttuu di-ionimuotoon (kuva 6). (Blackburn ym., 2009; Vuorema, 2008, s. 15.) Kun värjäysliemen pH on korkea, noin 12—13 tai korkeampi, leukoindigon ionisaatiotaso kasvaa ja samalla myös puuvillan hydroksyyliiryhmät alkavat ionisoitua. Kun sekä värimolekyyli että puuvilla on negatiivisesti varautunut, ne hylkivät toisiaan ja väri imeytyy huonommin puuvillakuituun aiheuttaen heikomman värjäystuloksen. (Božič & Kokol, 2008.) Leukoindigon mono-ionimuotoa, joka imeytyy tehokkaimmin puuvillakuituun, esiintyy eniten, kun väriliemen

pH on noin 11, joten tätä voidaan pitää ideaalisena pH:na puuvillan indigovärjäykseen (Blackburn ym., 2009).



Kuva 6: Indigon (indigotiinin) pelkistyminen ensin happamaksi leukoindigoksi, sitten emäksen lisäyksen ansiosta mono-ionimuotoon ja kun emästä lisätään edelleen, di-ionimuotoon (Blackburn ym., 2009; Vuorema, 2008, s. 15).

Redoxpotentiaali eli hapetus-pelkistyspotentiaali on kemiallinen suure, joka kertoo aineen kyvystä ottaa vastaan tai luovuttaa elektroneja ja siten toimia hapettimena tai pelkistimenä. Hapetus-pelkistyspotentiaalin yksikkö on jännitteen yksikkö, voltti. Mitä pienempi (enemmän negatiivinen) aineen redoxpotentiaali on, sitä voimakkaampi pelkistin aine on. Redoxpotentiaaleja vertaamalla voidaan arvioida, tapahtuuko aineiden hapettumis-pelkistymisreaktio spontaanisti. Aine, jonka redoxpotentiaali on pienempi, pelkistää suuremman redoxpotentiaalin omaavan aineen, mikäli ne pääsevät sähkökemiallisesti kosketuksiin toistensa kanssa. (Hannola-Teitto, Jokela, Leskelä, Näsäkkälä, Pohjakallio & Rassi, 2006b, s. 16—19.) Indigon redoxpotentiaali on noin -600 mV. Jotta indigo saadaan pelkistettyä, täytyy pelkistimenä käytetyn aineen redoxpotentiaalin olla -600 mV:n luokkaa tai pienempi (enemmän negatiivinen), jotta indigo pelkistyy. Pelkistysolosuhteilla on suuri merkitys värjäystuloksen ja värinkesto-ominaisuuksien kannalta, sillä liiallinen pelkistimen määrä voi johtaa ylipelkistymiseen ja sen myötä heikompaan värjäystulokseen ja värin keston. Ylipelkistymisessä indigon molekyyli rakenne järjestyy uudelleen peruuttamattomasti ja väriaine tuhoutuu. (Božič & Kokol, 2008; Blackburn ym, 2009; Bechtold & Pham, 2019, s. 280; Meksi ym., 2012.)

3.2.1 Natriumditioniitti

Yleisimmin indigon pelkistämiseksi käytetään natriumditioniittia ($\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_4$). Natriumditioniitti on äärimmäisen tehokas pelkistin, joten sen avulla indigo voidaan pelkistää tehokkaasti ja nopeasti. Natriumditioniitti hapettuu kuitenkin todella helposti ilman hapen vaikutuksesta ja emäksisessä liuoksessa sen stabiilisuus laskee nopeasti lämpötilan noustessa myös ilman happea. Tämän vuoksi natriumditioniittia joudutaan käyttämään ylen määrin, jotta korvataan hapettunut natriumditioniitti. Natriumditioniitin tehokkuus voi olla toisinaan myös ongelmallista, sillä liian suuri natriumditioniitin konsentraatio värjäysliemessä voi johtaa myös indigon ylipelkistymiseen, ja siten värjäystuloksen heikkeneemiseen. (Božič & Kokol, 2008; Blackburn ym., 2009; Bechtold & Pham, 2019, s. 280; Meksi ym., 2012.)

Natriumditioniitti hajoaa myrkyllisiksi sulfaateiksi (SO_4^{2-}), sulfiiteiksi (SO_3^{2-}) ja tiosulfaateiksi ($\text{S}_2\text{O}_3^{2-}$). Jätevedessä voi olla myös merkittäviä määriä itse natriumditioniittia, joka myös on ympäristölle haitallinen. Natriumditioniitti vaikuttaa jätevesien aerobisiin prosesseihin, joten jätevesiin on lisättävä ylimääräistä hapetinta sen neutraloimiseksi. Jätevesien korkea sulfaatti- ja sulfiittipitoisuus tekee niistä erittäin syövyttäviä, joten ne voivat aiheuttaa myös teknisiä ongelmia putkistoon. Lisäksi sulfaattijäämistä voi muodostua anaerobisen hajoamisen tuloksena myrkyllisiä vetysulfaatti-ioneja (HS^-). (Božič & Kokol, 2008.)

3.2.2 Sähkökemiallinen pelkistäminen

Sähkökemian on kemian osa-alue, joka tutkii hapettumis-pelkistymisreaktioita, joissa syntyy tai kuluu sähköä (Hannola-Teitto ym., 2006b). Sähkökemialliset reaktiot perustuvat varauksen siirtymiseen elektrodilta elektrolyyttiliuokseen. Negatiivisesti varautunut elektrodi, eli katodi, luovuttaa elektroneja. Positiivisesti varautunut elektrodi, eli anodi, puolestaan vetää elektroneja puoleensa. Pelkistymisreaktiot tapahtuvat siis katodin pinnalla, ja anodi taas toimii hapettajana. (Blackburn ym., 2009.)

Indigo voidaan pelkistää sähkökemiallisesti ns. suoraan tai epäsuorasti. Suorassa sähkökemiallisessa pelkistämiseksi indigo on kiinteinä hiukkasina emäksisessä liuoksessa. Pelkistyminen tapahtuu katodin luovuttaessa elektronin suoraan kiinteälle indigolle. Pelkistynyt indigo on nyt vesiliukoisessa muodossa ja liukenee emäksiseen liuokseen. Epäsuorassa sähkökemiallisessa pelkistämiseksi katodin pelkistysteho siirretään elektro-

lyyttiliuokseen lisäämällä siihen liukeneva redoxpari, joka toimii välittäjänä katodin ja indigon välillä kuljettaen elektronit katodilta väriaineelle. (Vuorema, 2008; Vuorema, John, Keskitalo, Kulandainathan & Marken, 2008; Blackburn ym., 2009.)

Suoran sähkökemiallisen pelkistämisen ongelmana on, että pelkistyminen tapahtuu vain katodin pinnalla. Jotta elektronin siirtyminen katodilta indigolle tapahtuu, niiden täytyy olla kosketuksissa, mikä rajoittaa pelkistystehoa (Blackburn ym., 2009). Epäsuorassa sähkökemiallisessa pelkistämisessä puolestaan välittäjäaineelle on lukuisia vaatimuksia, joiden tulee täytyä: sillä on esimerkiksi oltava riittävän alhainen redoxpotentiaali (n. -700 — -600 mV), se ei saa olla herkkä indigoväriliemessä oleville aineille (esim. puuvillan epäpuhtaudet, veden kovuus, kasviperäisen indigon tapauksessa myös indigon epäpuhtaudet), katodin pintareaktioille tai kemiallisille reaktioille, jotka edeltävät tai seuraavat katodi-elektronien siirtoa, se ei saa olla myrkyllinen eikä se saisi siirtyä väriaineen mukana tekstiilikuituun. Välittäjinä on tutkittu mm. eri rautakomplekseja ja antrakinin johdannaisia. Rajoitteistaan huolimatta indigon sähkökemiallinen pelkistäminen on suotuisa menetelmä, sillä se vähentää kemikaalien käyttöä värjäyksessä huomattavasti. (Blackburn, 2009; Vuorema, 2008; Vuorema ym., 2008.) Menetelmän monimutkaisuuden ja laitevaatimusten vuoksi se ei kuitenkaan sovi kotivärjäreille tai käsityön opetukseen.

3.2.3 Biologinen pelkistäminen

Ennen nykyaikaisia pelkistysmenetelmiä indigo pelkistettiin käymisen avulla. Kuivatut morsinkopallot murskattiin, kasteltiin ja annettiin käydä isoissa kasoissa joitakin viikkoja. Höyryävää morsinkokasaa kasteltiin ja käännettiin säännöllisesti tasaisen käymisen varmistamiseksi. Väriemi valmistettiin lisäämällä lämpimään veteen tämä käynyt lehtimassa ja tuhkalipeää tai kalkkia ($\text{Ca}(\text{OH})_2$). Usein lisättiin myös leseitä ja krappia eli värimataraa (*Rubia tinctoria*). Kauppareittien avauduttua eurooppalaisiin morsinkokyyppiin lisättiin usein myös *Indigofera*-suvun kasveista peräisin olevaa trooppista indigoa. Väriemi pidettiin noin 60 °C:n lämpötilassa ja muutamassa päivässä liemen väri muuttui kirkkaan keltaiseksi ja kyyppi oli valmis värjäykseen. Morsinkokyyppi saattoi pysyä sopivalla ainesosien lisäämisellä toimintakykyisenä pitkiäkin aikoja, jopa kuukausia. (Balfour-Paul, 2005, s. 119—123; Cardon, 2007, s. 369—370; Blackburn ym., 2009.)

Käymiskyyppin toiminta perustuu bakteeritoimintaan. Perinteisellä tavalla valmistetun morsingon käymiskyyppin bakteeriflooraa tutkimalla on selvinnyt, että pääasiassa kyyppissä vaikuttaa kolme termofiilistä aerobista bakteeria, *Geobacillus palidus*, *Ureibacillus thermosphaericus* ja *Bacillus thermoamylovorans*. Näiden bakteerien hengitys poistaa

kyypistä happea ja ne mahdollistavat siten fermentoivan anaerobisen bakteerin kasvun kyypissä. Tämä anaerobinen bakteeri, *Clostridium isatidis*, kykenee pelkistämään indigon leukomuotoon. (Blackburn ym., 2009; Padden, Dillon, John, Edmonds, Collins & Alvarez, 1998.)

Nicholson & John (2005) tutkivat värimataran (*Rubia tinctorum*) vaikutusta indigon biologiseen pelkistämiseen. Värimatarassa olevat antrakinonit kiihdyttivät indigon pelkistymistä *Clostridium isatidis* -bakteerin avulla. Värimataran lisääminen sai myös, *Clostridium papyrosolvens* -bakteerin pelkistämään jossain määrin indigoa, vaikka ilman värimataraa se ei pystynyt indigoa pelkistämään. Antrakinonit todennäköisesti muuttavat joko indigopartikkelin tai bakteerin pinnan ominaisuuksia siten, että elektronin vaihto bakteerin ja indigon välillä helpottuu. (Nicholson & John, 2005.)

Bakteeritoimintaan perustuva biologinen pelkistäminen voisi olla ympäristöystävällinen vaihtoehto nykyisille indigon ja muiden kyypivärien pelkistysmenetelmille, mutta siihen liittyviä mekanismeja ei tunneta vielä tarpeeksi hyvin, jotta sitä voitaisiin hyödyntää laajamittaisesti. On edelleen epäselvää, kuinka bakteerit vuorovaikuttavat indigon kanssa, jotta pelkistyminen tapahtuu. (Blackburn ym., 2009.)

3.2.4 Pelkistäminen sokereilla

Indigon pelkistämistä eri sokereilla on tutkittu runsaasti. Erityisesti glukoosin kykyä pelkistää indigoa on tarkasteltu useissa vertaisarvioituissa tutkimuksissa, mutta myös muita sokereita ja orgaanisia yhdisteitä on tarkasteltu. Eri tutkimuksissa on keskitytty pääasiassa tarkastelemaan sokerien redoxpotentiaaleja ja pelkistysolosuhteiden vaikutusta niihin, sekä värjäystuloksia eri sokereilla pelkistetyillä värjäysliemillä värjätessä.

Saikhao ym. (2017) pelkistivät thaimaalaista kasviperäistä indigoa glukoosilla ja vertasivat sitä natriumditioniittiin. Tutkimuksessa mitattiin redoxpotentiaaleja ja tehtiin värjäyskokeet puuvillalle. Redoxpotentiaalia tarkasteltiin lämpötilan ja pelkistysajan suhteen. Värjäystuloksia verrattiin värin voimakkuuden osalta ja lisäksi verrattiin värin vesipesun kestoa. Natriumditioniitin redoxpotentiaali oli odotetusti enemmän negatiivinen kuin glukoosin, mutta myös glukoosin redoxpotentiaali oli riittävä indigon pelkistämiseen. Optimaaliseksi pelkistysajaksi osoittautui sekä glukoosilla että natriumditioniitilla 10 minuuttia ja lämpötilaksi 70 °C. Värjäyskokeessa natriumditioniitilla saatiin jonkin verran voimakkaampia värejä, kuin glukoosilla. Voimakkaimmat värjäystulokset saatiin molemmilla pelkistimillä 10 minuutin värjäysajalla. Värin pesunkestotesteissä glukoosilla pelkistetty indigo osoittautui vesipesun kestoltaan hieman natriumditioniitilla pelkistettyä paremmaksi.

Vuorema (2008) on tutkinut morsingosta eristetyn indigon pelkistämistä glukoosilla ja antrakinonien käyttöä glukoosipelkistykseen katalyyttinä. Antrakinonit osoittautuivatkin erittäin tehokkaiksi katalyyteiksi. Emäksen (NaOH) konsentraatiota liuoksessa voitiin laskea selvästi jo pienen antrakinonimäärän lisäyksen myötä. Myös lämpötilan nosto tehosti indigon pelkistymistä.

Glukoosin lisäksi myös muita sokereita on tutkittu indigon pelkistäjinä. Saikhao ym. (2018) vertailivat fruktoosia, glukoosia, laktoosia, maltoosia ja galaktoosia indigon pelkistämisessä natriumditioniittiin. Eri sokereilla ja natriumditioniitilla pelkistetyillä liemillä värjättiin puuvillakangasta ja näistä vertailtiin sekä värjäystulosta että värinkesto-ominaisuuksia. Lisäksi tutkimuksessa tarkasteltiin käytetyn emäksen, natriumhydroksidin (NaOH) ja kalsiumhydroksidin ($\text{Ca}(\text{OH})_2$), vaikutusta värjäystulokseen. Tutkimuksessa käytettiin synteettistä indigoa.

Natriumditioniittiin verrattuna sokerit vaativat korkeamman pelkistyslämpötilan. 50 °C:n lämpötilassa sokereista paras redoxpotentiaali saavutettiin fruktoosilla (-716,3 mV) ja heikoin galaktoosilla (-702,5 mV) ja glukoosilla (-703,9 mV). Kun lämpötilaa nostettiin 70 °C:een, laskivat myös galaktoosin ja glukoosin redoxpotentiaalit selvästi alle -700 mV:iin ja ne olivat stabiilimpia kuin 50 °C:ssa. Värjäystulokset eri sokereilla pelkistäessä, kun emäksenä käytettiin natriumhydroksidia, olivat vaaleampia, vihreämpiä ja kirkkaampia, kuin natriumditioniitilla pelkistettäessä. Sokereista voimakkaimman värin antoi fruktoosi, mutta sekin oli kuitenkin natriumditioniittia vaaleampi. Kun emäksenä käytettiin kalsiumhydroksidia, oli sokereilla pelkistetyt värjäystulokset vaaleampia, vihreämpiä ja vähemmän kirkkaita, kuin vastaavat sokerilla pelkistetyt liemet, joissa emäksenä oli käytetty natriumhydroksidia. Sen sijaan natriumditioniitilla pelkistetyistä väriliemistä kalsiumhydroksidi antoi voimakkaamman värin kuin natriumhydroksidi. Tämän arveltiin johtuvan lienten erilaisista pH-arvoista. Emästä laitettiin jokaiseen liemeen saman verran, mutta koska natriumditioniitti aiheuttaa liemissä pH:n laskua, oli näiden liemien pH todennäköisesti lähempänä 11,5, minkä kirjallisuuden perusteella tiedetään olevan optimaalinen indigon selluloosakuituun imeytymiseen. Sokerit eivät laske pH:ta yhtä voimakkaasti, joten liemien pH oli todennäköisesti korkeampi, ja leukoindigo oli siten muodossa, joka ei kiinnity selluloosakuituun yhtä hyvin. (Saikhao ym., 2018)

Värin vesipesunkesto oli Saikhaon ym. (2018) tutkimuksessa natriumditioniitilla erinomainen riippumatta siitä, mitä emästä oli käytetty. Sokereilla pelkistettäessä natriumhydroksidi antoi paremman vesipesunkeston kuin kalsiumhydroksidi, mutta molemmilla

emäksillä sokereilla pelkistetyt liemet antoivat hieman heikomman vesipesunkeston kuin natriumditioniitti. Hankauksen kesto sekä kuivana että märkänä oli sokereilla pelkistettäessä parempi kuin natriumditioniitilla. Emäksellä ei ollut vaikutusta sokerilla pelkistettyjen hankauksenkestoihin, natriumditioniitilla pelkistetyistä näytteistä hankauksen kesto märkänä oli hieman parempi kalsiumhydroksidilla.

Meksi ym. (2012) tutkivat glukoosin, asetolin ja asetoiinin pelkistyskykyä verrattuna natriumditioniittiin. Näiden α -hydroksikarbonyylien ja natriumditioniitin redoxpotentiaalit mitattiin ilman indigoa ja indigon kanssa kahdessa eri lämpötilassa (50 °C ja 75 °C) ja eri pitoisuuksilla. Värjäyskokeissa tarkasteltiin värin voimakkuutta. Värjättävä materiaali oli puuvillaa ja käytetty indigo synteettistä.

α -hydroksikarbonyylit eivät olleet yhtä voimakkaita pelkistimiä kuin natriumditioniitti, mutta erityisesti korkeammassa lämpötilassa niiden redoxpotentiaali oli kuitenkin riittävä pelkistämään indigoa. Värjäyskokeissa natriumditioniitilla saatiin voimakkain värjäystulos 50 °C:n lämpötilassa. Kuitenkin kun lämpötila nostettiin 75 asteeseen, kaikki kolme α -hydroksylikarbonyyliä antoivat voimakkaamman värjäystuloksen kuin natriumditioniitti. (Meksi ym., 2012.)

Eryteisesti pienimuotoiseen kotivärjäykseen käytettävissä resepteissä indigoa pelkistetään usein myös esimerkiksi ylikypsillä hedelmillä tms. tuotteilla, jotka sisältävät eri sokereita. Shin ym. (2014) tutkivat elintarviketeollisuuden jätteenä syntyvän korealaisen karhunvatukan 'bokbunjan' (*Rubus coreanus*) mäskin käyttöä indigon pelkistimenä. Bokbunja-marjat sisältävät pelkistimenä toimivia sokereita, kuten mm. glukoosia, fruktoosia ja sakkaroosia. Lisäksi marjat sisältävät runsaasti antioksidantteja, jotka voivat auttaa pelkistysprosessiin stabiloinnissa (Shin ym., 2014).

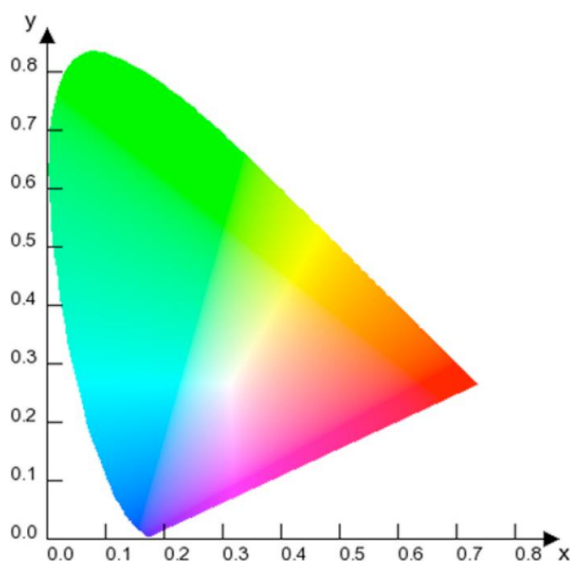
Bokbunjan mäskillä pelkistettiin synteettistä indigoa ja sen redoxpotentiaali mitattiin. Saadulla väriliemellä värjättiin ramikangasta ja värjäystuloksista tarkasteltiin värin voimakkuutta. Redoxpotentiaali laski bokbunjamäskillä noin -550 mV — -600 mV, mikä oli riittävä indigon pelkistämiseen. Väriliemen redoxpotentiaali pysyi stabiilina liemen mäskin määrästä riippuen 1—13 vuorokautta. Voimakkaimmat värjäystulokset saatiin 1—2 vuorokauden pelkistysajalla. (Shin ym., 2014.) Bokbunjan mäskillä on siis potentiaalia ekologisenä indigon pelkistimenä, mutta pelkistysprosessi kestää selvästi kemiallista pelkistystä pidempään. Tutkimuksessa ei myöskään verrattu värjäystuloksia natriumditioniitilla saataviin värjäystuloksiin.

4 Väri

Ihminen, jolla on normaali näköaisti, pystyy erottamaan toisistaan satoja tuhansia tai jopa miljoonia eri värisävyjä (Rihlama, 1992, s. 13; Arnkil, 2007, s. 152). Väriaistimus syntyy, kun näkyvän valon aallonpituusalueella oleva (380—780 nm) sähkömagneettinen säteily heijastuu tarkasteltavasta kohteesta ihmisen silmään, impulssi etenee näköhermosäikeitä pitkin aivoihin ja aivot tekevät tulkinnan kohteesta ja sen väristä. Aivoilla on väriaistimuksen synnyssä erittäin merkittävä rooli. (Rihlama, 1992, s. 12.) Lisäksi siihen vaikuttaa myös muun muassa valaistus ja katsomiskulma. Väriaistimus onkin hyvin subjektiivinen kokemus. Objektiviseen värin määrittelyyn on kehitetty kuitenkin värijärjestelmiä ja värin mittaamiseen mittalaitteita, joilla kukin värisävy voidaan määritellä yksiselitteisesti.

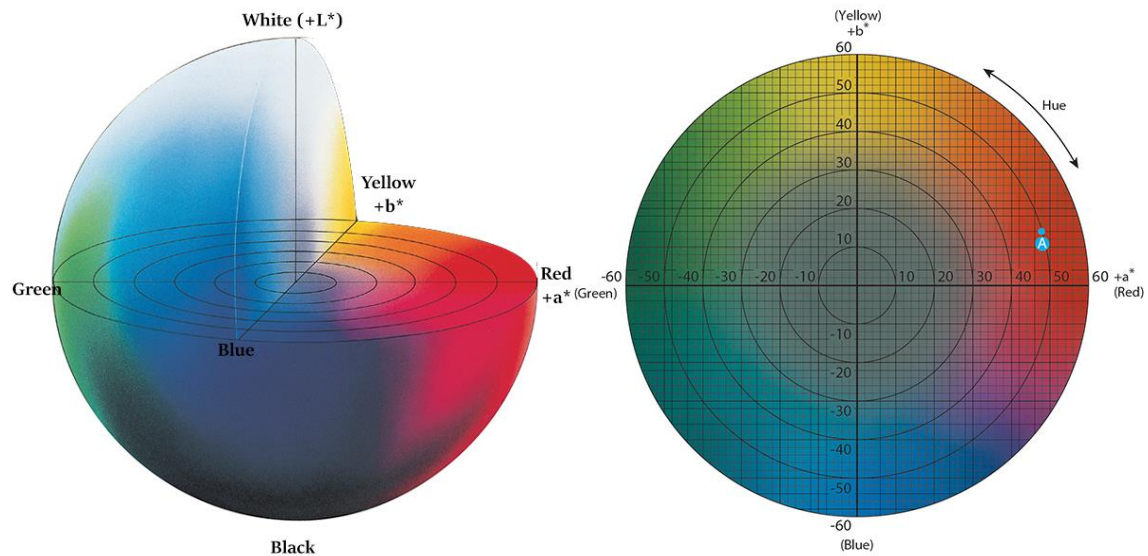
4.1 CIELAB väriavaruus

Kansainvälinen valaistuskomissio CIE (*Comission Internationale de l'Eclairage*) otti 1920-luvulla tavoitteekseen luoda järjestelmän, jolla voitaisiin tarkasti ja yksiselitteisesti määritellä kaikki ihmisen havainnoimat värit. Vuonna 1931 valmistui CIE xyz -järjestelmä, josta on tullut yksi yleisimmin käytettävistä väristandardeista. Se tunnetaan myös nimellä CIE 1931. (Arnkil, 2007, s. 165.) CIE xyz -järjestelmässä värit ilmaistaan kahden koordinaatin ja valon heijastusprosentin avulla. Koordinaatit viittaavat väridiagrammiin, jossa puhtaat värit sijaitsevat venytetyn hevosenkengän muotoisella kaarella (kuva 7). Kaaren rajaaman alueen keskellä on ns. valkopiste, jota kohti siirtyessä värien ärsykepuhtaus vähenee. Harmaa-asteikko sijoittuu kohtisuoraan kuvaustasoa vasten. (Rihlama, 1992, s. 32.)



Kuva 7: CIE xyz-diagrammin xy-taso. Tätä tasoa vasten kohtisuoraan z-akselille sijoittuu harmaa-asteikko. Kuvan lähde: Chigogora, Fleming & Sharma 2019.

CIE xyz-järjestelmän ongelmana on, että se ei ole symmetrinen, joten sillä ei esimerkiksi voi havainnollistaa visuaalisia värieroja geometrisina etäisyyksinä. Järjestelmään onkin julkaistu sittemmin useampia uudistuksia, joista ehkä tunnetuin on vuonna 1976 julkaistu CIE $L^*a^*b^*$ (lyhenne CIELAB). CIELAB on täysin symmetrinen, tasajakoinen väriavaruus (kuva 8). Kahden värin välinen geometrinen etäisyys väriavaruudessa vastaa niiden visuaalista etäisyyttä. (Arnkil, 2007, s. 168.)



Kuva 8: CIELAB-väriavaruus (vas.) ja sen poikkileikkaus (oik.). Poikkileikkauksen keskellä näkyy neutraali harmaa keskipiste ja kromaattisuus kasvaa kohti pallon pintaa. Kuvien lähde: <https://sensing.konicaminolta.asia/what-is-cie-1976-lab-color-space/>

CIELAB-väriavaruus rakentuu opponentivärien varaan siten, että sen a-akselilla on vastakkain vihreä ja punainen, ja b-akselilla sininen ja keltainen. a-akselilla positiiviset arvot ovat punaisia ja negatiiviset vihreitä ja b-akselilla positiiviset arvot ovat keltaisia ja negatiiviset sinisiä. L-akseli eli harmaa-akseli on a- ja b-akselia vasten kohtisuorassa ja se voi saada arvoja välillä 0...100. L:n arvo 100 on puhdas valkoinen ja 0 on puhdas neutraali musta. Värien kylläisyys eli kromaattisuus kasvaa pallon muotoisessa väriavaruudessa ulospäin mentäessä ja avaruuden keskellä on neutraali harmaa. (Arnkil, 2007, s. 169.)

4.2 Spektrofotometrinen värin mittaaminen

Spektrofotometri on laite, jonka toiminta perustuu väripinnasta heijastuvan sähkömagneettisen säteilyn aallonpituuden mittaamiseen. Spektrofotometrissa on sisäinen kalibroitu valonlähde ja se mittaa kohteen pinnasta heijastuvan valon muutaman nanometrin aallonpituusjaksoissa. Kun nämä mittaustulokset yhdistetään, saadaan kohteen spektrijakauma. (Arnkil, 2007, s. 156—157.) Mittalaite muuttaa spektrijakauman vastaamaan jonkin väriavaruuden tristimulusarvoja, esimerkiksi CIELAB-väriavaruuden L^* -, a^* - ja b^* -

arvoja. Mittauksessa voidaan käyttää erilaisia valonlähteitä ja tarkastelukulmia ja mitauksessa voidaan huomioida pinnan kiillon aiheuttama sironta tai jättää kiilto huomioimatta (Butts, 2015). Tekstiilien värinkesto-ominaisuuksien standardeissa (mm. SFS-EN-ISO 105-A04, SFS-EN-ISO 105-A05) suositellaan käytettäväksi valonlähteenä päivänvaloa vastaavaa standardivalonlähdettä D65 (värilämpötila 6504 K) ja tarkastelukulmana 10 °.

5 Tutkimustehtävä ja tutkimuskysymykset

Tässä tutkimuksessa tarkastellaan kyyppivärjäystä morsingolla (*Isatis tinctoria*) ja morsinkolajikkeeseen, indigovärin uutomenetelmän sekä indigon pelkistysmenetelmän vaikutusta värjäystulokseen ja värinkesto-ominaisuuksiin. Tavoitteena on löytää tavallista natriumditioniitilla tehtävää pelkistystä ympäristöystävällisempi toimiva menetelmä, jota voidaan käyttää muun muassa käsityönopeutuksessa peruskoulussa tai vapaassa sivistystyössä sekä kotivärjäyksessä.

Tutkimus pyrkii vastaamaan seuraaviin tutkimuskysymyksiin:

1. Miten eri morsinkolajikkeet vaikuttavat värjäystulokseen ja värinkesto-ominaisuuksiin puuvillaa värjätessä?
2. Millä tavalla morsingonlehtien uuttoaika ja kokonaisten tai silputtujen lehtien uutaminen vaikuttavat puuvillan värjäystulokseen?
3. Miten glukoosin ja fruktoosin käyttö pelkistimenä vaikuttaa värjäystulokseen ja värinkesto-ominaisuuksiin natriumditioniittiin verrattuna puuvillaa värjätessä?

6 Kokeellinen tutkimus käsityötieteessä

Kokeellisessa tutkimuksessa mitataan jonkin yhden käsiteltävän muuttujan vaikutusta toiseen muuttujaan. Tietystä populaatiosta valittua näytettä analysoidaan erilaisten koejärjestelyjen valossa harkitusti ja systemaattisesti olosuhteita muutellen. Koejärjestely suunnitellaan tarkasti, jotta saadaan aikaan muutos yhdessä tai useammassa muuttujassa samalla kun kontrolloidaan muita muuttujia. Muutokset mitataan numeerisesti. (Hirsjärvi, Remes & Sajavaara, 1997, s. 130.)

Kokeellisessa tutkimuksessa on lähtökohtaisesti olemassa jokin teoria tai hypoteesi, joka halutaan empiirisen aineiston avulla osoittaa todeksi. Koesuunnitelmaa tehdessä on määriteltävä kaikki sellaiset muuttujat, joilla on yhteys koeasetelmaan, ja suunnitella niiden kontrollointi. (Anttila, 2005, s. 272). Kokeessa tietyt muuttujat, ns. taustamuuttujat,

pidetään vakiona, ja tutkittavaa muuttujaa, jota kutsutaan myös riippumattomaksi muuttujaksi, varioidaan. Näin saadaan tietoa muuttujien vaikutuksesta toisiinsa ja tutkittavaan ilmiöön. Taustamuuttujan ja riippumattoman muuttujan lisäksi kokeellisessa tutkimuksessa voi olla kontrollimuuttuja, johon tutkittavaa riippumatonta muuttujaa verrataan. Kontrollimuuttuja on ns. nollanäyte, jossa riippumattoman muuttujan tutkittavaa ominaisuutta ei ole. (Räisänen, 2014, s. 108; Metsämuuronen, 2005, s. 1133.)

Kokeellisessa tutkimuksessa pyritään aina tulosten toistettavuuteen. Tutkimuksessa käytetään sellaisia tieteellisiä instrumentteja, jotka ovat kaikkien tutkijoiden käytettävissä. Kokeet suoritetaan ja raportoidaan niin tarkkaan, että toisten tutkijoiden on mahdollista suorittaa koe uudelleen samalla tavalla ja verifioida tai osoittaa vääräksi kokeen tulokset. (Anttila, 2005, s. 270–275.) Tekstiilien tutkimuksessa kokeet suoritetaan usein tiettyjen standardien mukaisesti, jolloin kaikki saman standardin mukaan tehdyt kokeet ovat keskenään vertailukelpoisia. Sisäinen ja ulkoinen validiteetti on kokeellisessa tutkimuksessa välttämättömyys. Sisäisellä validiteetilla tarkoitetaan kokeellisessa tutkimuksessa sitä, johtuvatko koetuloksissa havaitut erot juuri käsiteltävänä olleen muuttujan manipuloinnista. Ulkoinen validiteetti taas liittyy tulosten edustavuuteen ja siihen, voidaananko niitä yleistää tämän nimenomaisen kokeen ulkopuolelle. (Anttila, 2005, s. 273.)

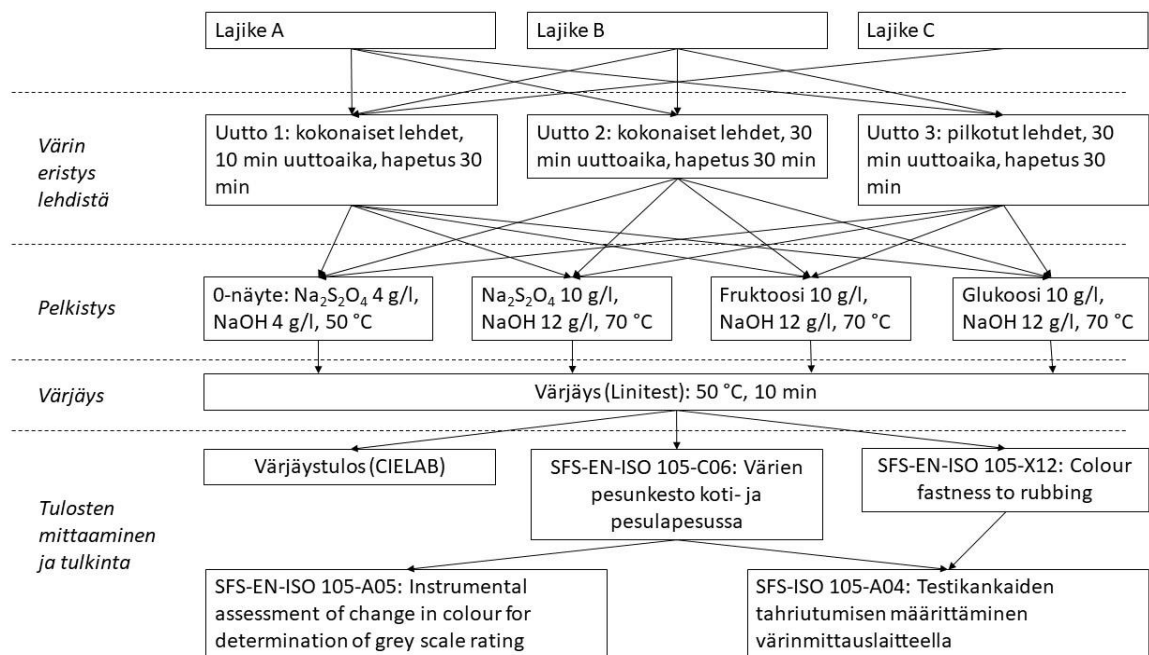
Kokeellisin menetelmin saatua tietoa on pidetty ja pidetään usein yhä luotettavimpana ja arvostetuimpana tietona, kun tarkoituksena on tarkastella syy-seuraussuhteita ja tehdä aukottomia päätelmiä tutkimustuloksista. Aukottominkaan tutkimusasetelma ei kuitenkaan pysty vastaamaan kaikkiin haasteisiin. Kokeessa voidaan joutua tinkimään ilmiön monimuotoisuuden ja erityispiirteiden huomioimisesta, ja yksinkertaistaa koetilannetta niin, että tarkastelu rajoitetaan vain tiettyihin, kiinnostuksen kohteena oleviin muuttujiin, verrattuna todelliseen tilanteeseen. (Metsämuuronen, 2005, s. 1128–1129).

Aina kaikkia taustamuuttujia ei ole mahdollista tai tutkimusintressin kannalta tarpeellista kontrolloida. Tällöin puhutaan kvasikokeellisesta tutkimuksesta. Kvasikokeellisessa tutkimuksessa tutkija pyrkii niin lähelle kokeellista tarkkuutta, kuin mahdollista, mutta päähuomio kiinnitetään sisäiseen ja ulkoiseen validiteettiin, eli siihen miten hyvin tutkimus on suoritettu olosuhteista huolimatta. Kokeen poikkeavuudet ja rajoitukset on otettava huolellisesti huomioon ja kokeen kulku raportoida tarkasti, sillä myös kvasikokeellisen tutkimuksen tavoitteena on kokeen toistettavuus. (Anttila, 2005, s. 274–275.)

Tässä tutkimuksessa on käytetty kvasikokeellista tutkimusmenetelmää, sillä kaikkia tuloksiin mahdollisesti vaikuttavia tekijöitä ei ole pystytty vakioimaan. Esimerkiksi värjäyskasvien lehtien kokojakaumaa ei pystytty vakioimaan, vaikka tiedetään, että indigon esiasteiden määrä on eri ikäisissä ja kokoisissa morsingon lehdistä erilainen. Tehdyt kompromissit on kuitenkin pyritty raportoimaan mahdollisimman tarkasti ja huomiomaan tulosten tarkastelussa.

6.1 Koeasetelma

Tutkimuksessa tarkastellaan kolmea eri morsinkolajiketta, lajike A, B ja C. Niistä tehtiin värin erotukset kolmella eri uuttomenetelmällä, lukuun ottamatta lajiketta C, josta värin erotus tehtiin lehtien vähäisemmän määrän vuoksi vain yhdellä menetelmällä. Eristetty indigo pelkistettiin fruktoosilla ja glukoosilla sekä natriumditioniitilla. Saaduilla liemillä värjättiin puuvillakangasta. Värjäyskokeista tarkasteltiin paitsi värjäystulosta, myös värin vesipesun kestoa sekä hankauksen kestoa morsinkolajikkeen, uuttomenetelmän ja pelkistämisen suhteen (kuva 9).

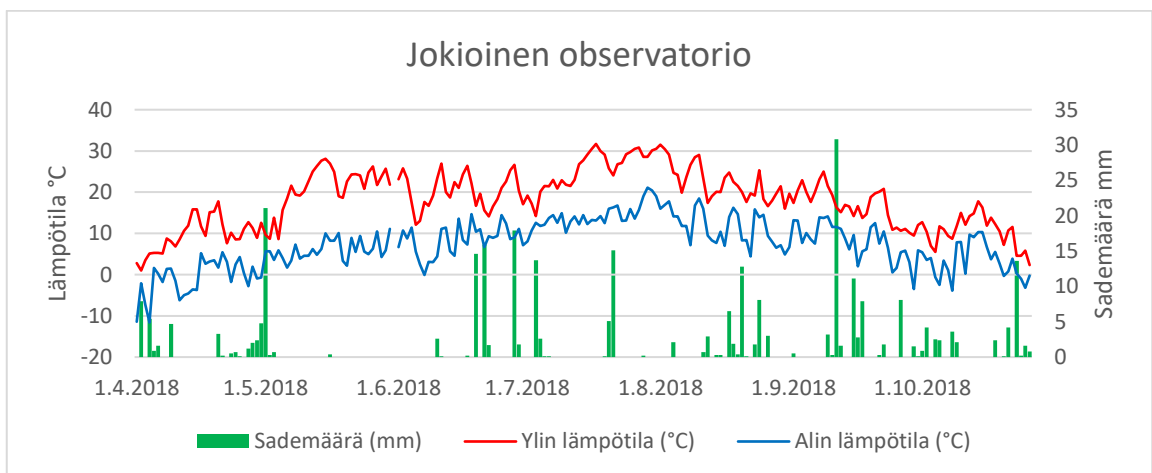


Kuva 9: Koeasetelma.

6.2 Aineisto ja tutkimusmenetelmät

Morsingon (*Isatis tinctoria*) lehtiä saatiin tutkimusta varten Luonnonvarakeskuksen Jokioisten koeviljelmiltä (Tietotie 4, 31600 Jokioinen). Kasvit kerättiin 26.10.2018. Keräystä edeltävänä yönä lämpötila oli Ilmatieteen laitoksen Jokioisten säähavaintoaseman mu-

kaan käynyt alimmillaan $-3,2\text{ }^{\circ}\text{C}$:ssa ja lievempiä yöpakkasia oli esiintynyt myös jo aiemmin syys – lokakuun vaihteessa (kuva 10), mutta lehdet olivat edelleen silmämääräisesti arvioituna hyväkuntoisia. Terminen kasvukausi alkoi, eli vuorokauden keskilämpötila nousi pysyvästi $+5$ asteen yläpuolelle 14.4.2018 ja loppui muutama päivä ennen kasvien keräystä, 22.10.2018. Tehoisan lämpötilan summa kasvukauden 2018 aikana Jokioisilla oli $1730\text{ }^{\circ}\text{Cvrk}$ ja kasvukauden sadesumma $262,8\text{ mm}$. Tehoisa lämpötilan summa lasjetaan summaamalla vuorokauden keskilämpötilojen $+5\text{ }^{\circ}\text{C}$:een ylittävä osa kasvukauden ajalta, ja sitä käytetään yleisesti kuvaamaan kasvukauden lämpöolosuhteita. Tehoisan lämpötilan summa oli kasvukaudella 2018 Jokioisilla mittaushistorian korkein (alk. 1961). Sadesumma oli noin 70 % tavanomaisesta. (<https://ilmatieteenlaitos.fi/terminen-kasvukausi>.)



Kuva 10: Vuorokauden ylin ja alin lämpötila sekä vuorokauden sademäärä Ilmatieteen laitoksen Jokioisten observatorion säähavaintoasemalla 1.4. — 26.10.2018. Sähavaintoaineisto: <https://ilmatieteenlaitos.fi/havaintojen-lataus>

Morsinkoa oli saatavilla kolmea eri lajiketta, jotka ovat peräisin Maa- ja elintarviketalouden tutkimuskeskuksen MTT:n (nyk. Luonnonvarakeskus) vuoden 2002 viljelykokeista. Lajike A on korjuuaikakokeesta, lajike B riviväli- ja siemenmääräkokeesta ja lajike C on lajikokeen koejäsen 6.



Kuva 11: Lajikkeen A (vas.) ja lajikkeen B (oik.) lehtiä ennen huuhtelua.

Lajiketta A saatiin kerättyä runsaasti. Lehtien kokojakauma oli n. 5-38 cm. Keskikokoisia ja isoja lehtiä oli runsaasti, ja kokojakauman pienimpiä lehtiä vähemmän. Osa isommista lehdistä oli jo hieman lakastuneen näköisiä, sillä niissä oli ruskeita pisteitä ja joidenkin lehtien reunat kellersivät hieman (kuva 11). Lajiketta B saatiin myös melko runsaasti. Lehdet olivat hieman pienempiä ja tuoreemman näköisiä, kuin lajikkeessa A. Lehtien kokojakauma vaihteli noin 7 ja 23 cm:n välillä (kuva 11). Lajiketta C saatiin vähiten, yhteensä 1,2 kg. Lehtien kokojakauma vaihteli noin 5 cm:stä 20 cm:iin. Tässä lajikkeessa oli muita enemmän kokojakauman pienempiä lehtiä. Kerättyjä lehtiä säilytettiin yön yli muovipusseissa viileässä tilassa ja väri erotettiin niistä 27.10.2018.

6.2.1 Indigon eristys morsingosta

Indigon eristys morsingon lehdistä tehtiin 27.10.2018 Helsingin yliopiston Kasvatustieteellisen tiedekunnan värjäämössä (Siltavuorenpenger 10). Lehtimateriaalista poistettiin isommat roskat ja lehdet huuhdeltiin viileällä vedellä (kuva 12). Väriin eristyksessä käytettiin kolmea hieman toisistaan poikkeavaa uutomenetelmää:

1. Kokonaisia lehtiä uutettiin 80 °C:ssa vedessä 10 minuuttia (kuva 14). Vettä käytettiin 2,5-kertainen määrä lehtien massaan nähden. Lehdet siivilöitiin pois ja liemi jäädytettiin viileässä (n. 15 °C) vesihautteessa 25 asteeseen. Liemeen lisättiin kalsiumhydroksidiliuosta, kunnes sen pH oli 9,5. Lientä hapetettiin pumpaamalla siihen ilmaa akvaariokäyttöön tarkoitetulla Sera Precision Air 275 R Plus -pumpulla puolen tunnin ajan (kuva 15).

2. Kokonaisia lehtiä uutettiin 80 °C:ssa vedessä 30 minuuttia. Vettä käytettiin 2,5-kertainen määrä lehtien massaan nähden. Lehdet siivilöitiin pois ja liemi jäädytettiin viileässä (n. 15 °C) vesihautteessa 25-asteiseksi. Liemeen lisättiin kalsiumhydroksidiliuosta ja lisäksi kiinteää kalsiumhydroksidia, kunnes pH oli 9,5. Kiinteää kalsiumhydroksidia lisättiin siksi, että pelkällä liuoksella pH:ta ei saatu nousemaan riittävän korkeaksi. Hapetus tehtiin samoin kuin menetelmässä 1.
3. Lehdet pilkottiin veitsellä pieneksi hakkeeksi (kuva 13) ja uutettiin 80 °C:ssa vedessä 30 minuuttia. Muutoin toimittiin, kuten menetelmässä 2.

Hapettamisen jälkeen liemiin lisättiin sataprosenttista etikkahappoa, kunnes niiden pH oli 5. Liemiä säilytettiin suljetuissa pulloissa jääkaapissa värjäykseen asti.

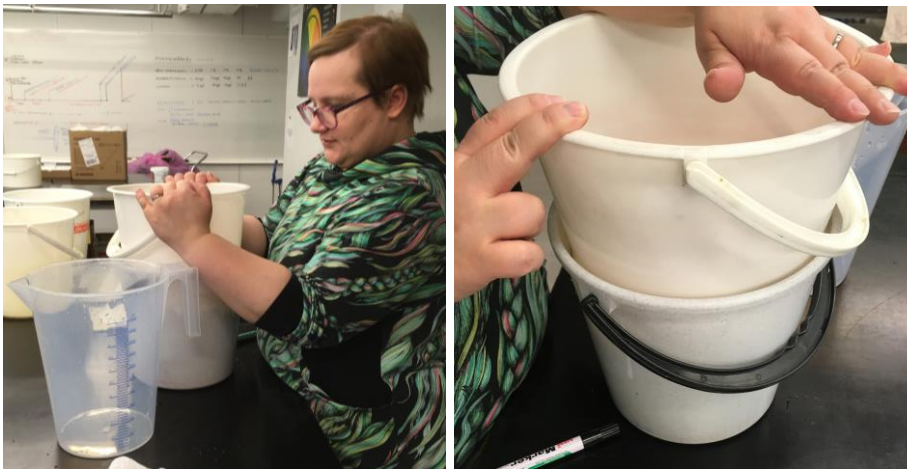
Menetelmällä 1 uutettiin kaikkia kolmea morsinkolajiketta. Lehtiä käytettiin 1,2 kg ja vettä 3 litraa. Menetelmällä 2 ja 3 uutettiin vain lajikkeita A ja B, kumpaakin 1,2 kg per menetelmä. Lajiketta C saatiin yhteensä vain 1,2 kg, joten sitä riitti ainoastaan yhteen uuttoon. Menetelmä 1 oli yhteneväinen Luonnonvarakeskuksessa aiemmin tehtyihin värinerotuskokeisiin (Keskitalo, 26.10.2018).



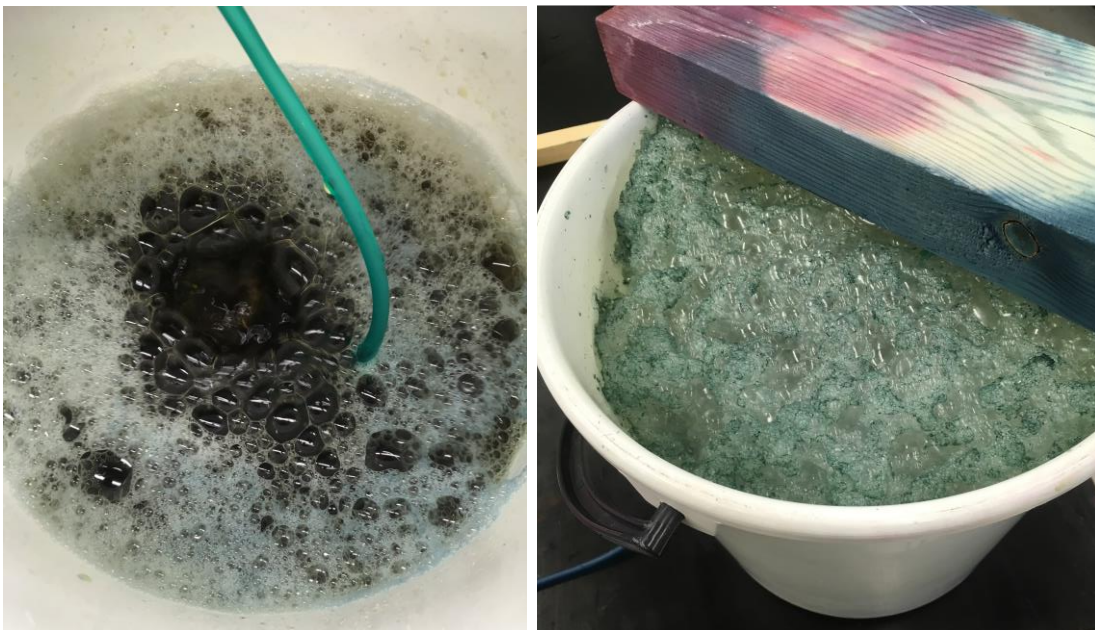
Kuva 12: Morsingonlehdistä huuhdeltiin maa-aines ja muut epäpuhtaudet viileällä vedellä.



Kuva 13: Pilkotut morsingonlehdet. Kuvat: Riikka Räisänen.



Kuva 14: Morsingonlehtiä uutettiin ämpärissä, ja lehtiä paineltiin alaspäin toisella ämpärillä, jotta kaikki lehdet pysyivät upoksissa veden alla. Kuvat: Riikka Räisänen.



Kuva 15: Indigon esiasteet hapetettiin indigoksi puhaltamalla liemeen ilmaa pienellä ilmapumpulla. Pelkistynyt indigo näkyy sinisinä hippuina vaahdon pinnalla.

6.2.2 Indigon pelkistys ja näytteiden värjääminen

Indigon pelkistäminen ja näytteiden värjääminen suoritettiin 22.3.2019 ja 28.3.2019 Helsingin yliopiston Kasvatustieteellisen tiedekunnan värjäämössä (Siltavuorenpenger 10). Värjäys suoritettiin Original Hanau Linitest-laitteella. Linitest on laboratoriovärjäykseen ja pesunkeston testaukseen käytettävä laite, jolla voidaan samanaikaisesti värjätä tai pestä 8 erillistä näytettä 400 ml:n vetoisissa näytepurkeissa. Laite pyörittää näytteitä vesihauteessa, jonka lämpötila voidaan säätää haluttuun lukemaan. Pelkistämässä käytettävien kemikaalien ja sokerien määrä sekä pelkistys- ja värjäyslämpötila ja -aika päätettiin aiemman tutkimuksen perusteella (taulukko 1).

Koska säilytyksessä veteen liukenematon indigo painuu liemen pohjalle, kaadettiin koko liemi ensin isoon astiaan, sekoitettiin hyvin ja mitattiin sitten näyteliemet. Tällä tavoin pyrittiin saamaan mahdollisimman tasalaatuiset värjäysliemet. Jokaista lientä mitattiin 400 ml Linitest- laitteen värjäyspurkkiin ja liemien lämpötilat nostettiin vesihauteessa 70 °C:een. Indigoliemeen lisättiin 48 g 10-prosenttista natriumhydroksidiliosta (12 g/l NaOH) ja 4 g (10 g/l) natriumditioniittiä, fruktoosia tai glukoosia.

Taulukko 1: Indigon pelkistämisolosuhteet sekä värjäysolosuhteet eri tutkimuksissa.

tutkimus	Pelkistäminen							Värjääminen	
	pelkistäjä	määrä g/l	lämpötila °C	aika min	emäs	määrä g/l	pH	lämpötila (°C)	aika min
Saikhao ym. (2017)	ditioniitti	10	70	10	NaOH	12			10
	glukoosi	20							
Meksi ym.	ditioniitti		75	10	NaOH	12	11,8 - 12,0	25	(1 min väri, 2 min hapetus) x 6
	glukoosi	21,6							
	asetol	3							
	asetoiini	2							
Saikhao ym. (2018)	D-glukoosi	10	70	10	NaOH & Ca(OH) ₂	12 (NaOH) & 15 (Ca(OH) ₂)		30	0,5
	D-fruktoosi								
	D-galaktoosi								
	laktoosi								
	maltoosi								
ditioniitti									
Shin ym.	bokbunja sludge		80		Ca(OH) ₂	33,3		60	20

Liemen annettiin pelkistyä vesihauteessa 70 °C:een lämpötilassa 10 minuuttia (kuva 16). Lisäksi jokaisesta liemestä tehtiin vertailunäyte, jossa käytettiin tavallisesti teollisessa indigovärjäyksessä käytettäviä kemikaalimääriä: 4 g/l natriumhydroksidia ja 4 g/l natriumditioniittiä, kun oletuksena oli, että indigoa olisi noin 2 g/l. Natriumditioniitin määrä

teollisessa värjämisessä on yleensä noin kaksinkertainen indigon määrään nähden, jotta saavutetaan mahdollisimman hyvä pelkistyminen. Pelkistyslämpötila tässä vertailunäytteessä oli 50 °C ja pelkistysaika 10 minuuttia. (Xin, Chong & Tu, 2000; Meksi ym., 2012.) Kustakin liemestä pelkistettiin siis yhteensä neljä näytettä (taulukko 2). Liemien pH mitattiin pelkistysajan lopuksi, ennen värjättävän näytteen lisäämistä purkkiin (liite 1).

Taulukko 2: Tässä tutkimuksessa indigon pelkistämiseen käytetyt kemikaalien ja sokeerien määrät ja pelkistysolosuhteet.

Pelkistäjä	Määrä (g/l)	NaOH (g/l)	Pelkistyslämpötila (°C)	Pelkistysaika (min)	Värjäyslämpötila (°C)	Värjäysaika (min)	Hapetus-aika (min)
Na ₂ S ₂ O ₄	4	4	50	10	50	10	10
Na ₂ S ₂ O ₄	10	12	70	10	50	10	10
Fruktoosi	10	12	70	10	50	10	10
Glukoosi	10	12	70	10	50	10	10



Kuva 16: Vasemmalla vesihauteessa 70 °C:ssa olevat väriliemet pelkistysajan alussa. Liemien pinnalla on sinistä indigovaahtoa, mutta liemen väri on jo alkanut muuttua keltaisen tai oranssin sävyiseksi. Oikealla väriliemet pelkistuksen lopussa. Värjättävät kangsnäytteet on jo lisätty purkkeihin. Purkeissa takarivissä on vasemmalla Na₂S₂O₄:lla ja oikealla fruktoosilla pelkistetty liemi, edessä keskellä on glukoosilla pelkistetty liemi.

Indigovärjäyksessä yleisesti käytetty liemisuhde on 1:50, joten värjäykseen valmisteltiin 8 g:n painoiset näytepalat valkoisesta puuvillaharsokankaasta (Eurokangas, Harsokangas A100, 100 % puuvilla, 110 g/m²). Kangaspalat kasteltiin perusteellisesti ennen värjäystä liottamalla niitä huoneenlämpöisessä vedessä tunnin ajan ennen värjäystä. Koska indigovärjäyksessä värjäysaika on melko lyhyt, lämmitettiin Linitest-laitteen vesihaude

valmiiksi 50 °C:een ennen värjäystä, sen sijaan että hauteen lämpötilaa olisi nostettu vähitellen värjäysajan kuluessa.

Näytteitä värjättiin 50 asteen lämpötilassa 10 minuuttia. Värjäysajan päätyttyä näytteet poistettiin näytepurkeista, ylimääräinen väriliemi puristettiin niistä pois ja ne asetettiin pyykkitelineeseen huoneenlämpöön hapettumaan 10 minuutiksi. Tämän jälkeen näytteet huuhdeltiin kädenlämpöisellä vedellä ja kuivatettiin kuivauskaapissa 60 °C:ssa 60 minuuttia.

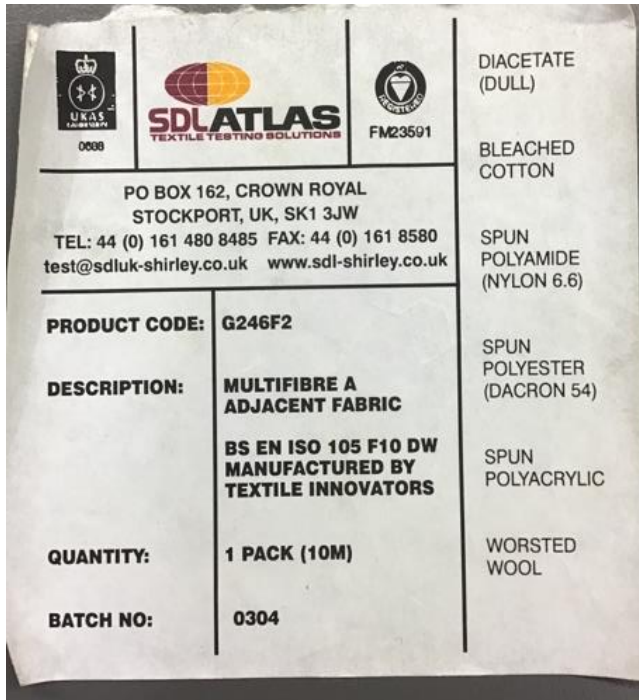
6.2.3 Värjäystulosten mittaaminen

Näytteiden värit mitattiin Konica Minolta CM-2600d -spektrofotometrillä. Mittauksissa käytettiin D65 valonlähdettä ja 10° tarkastelukulmaa. Mittaukseen tarvitaan aina värjätyä näytteen lisäksi ns. vertailunäyte, johon mittauksista verrataan. Vertailunäytteenä käytettiin esipestyä värjäämätöntä testikangasta.

Koska testikangas oli melko ohutta ja läpikuultavaa, taiteltiin näytepalat mittauksia varten nelinkerroin ja aseteltiin valkoisen paperin päälle. Näytteet olivat värjäytyneet hyvin taiseasti, joten kustakin näytteestä otettiin vain yksi värimittaus. Lisäksi tehtiin vastaavat mittaukset, jossa vertailunäytteenä käytettiin kunkin morsinkolajikkeen ja uuton standardimenetelmällä pelkistettyä ja värjättyä nollanäytettä (4 g/l NaOH, 4 g/l Na₂S₂O₄, pelkistys 50 asteessa 10 minuuttia, värjäys 50 asteessa 10 minuuttia). Mittaustuloksena saatiin sekä vertailunäytteen että tutkittavan näytteen L^{*}-, a^{*}- ja b^{*}-arvot, eli näytteen valkaisuus, vihreä – punainen -akselin arvo ja sininen – keltainen -akselin arvo, tutkittavan näytteen ja vertailunäytteen L^{*}-, a^{*}- ja b^{*}-arvojen erot, ΔL^{*}, Δa^{*} ja Δb^{*}, sekä kokonaisvärimuutos ΔE^{*}.

6.2.4 Väriin vesipesun kesto

Väriin vesipesun keston testit suoritettiin standardin SFS-EN-ISO 105-C06 mukaisesti. Testit suoritettiin Original Hanau Linitest-laitteella, jonka vesihaude lämmitettiin ennen pesutestin suoritusta valmiiksi 40 °C:een. Näytteen tahrivuutta testattiin SDL Atlaksen monikuitukankaalla (kuva 17), jossa on samassa kankaassa raitoina seuraavat kuidut: diasetaatti, valkaistu puuvilla, polyamidi, polyesteri, polyakryyli ja villa.



Kuva 17: SDL Atlas Textile Testing Solutionsin monikuitukankaan kuitutiedot.

Testattavasta kankaasta ja monikuitukankaasta leikattiin molemmista 100 +/-2 mm x 40 +/-2 mm palat ja ne aseteltiin päällekkäin niin, että testattava kangas oli monikuitukan-
kaan oikeaa puolta vasten ja peitti sen täysin. Kankaat ommeltiin yhteen toiselta lyhyeltä sivultaan (kuva 18).



Kuva 18: Pesunkeston testiä varten valmisteltu näytepala. Alimmaisena on monikuitu-
kangas ja sen päällä tutkittava näyte. Kankaat on ommeltu yhteen toiselta lyhyeltä sivul-
taa.

Standardin SFS-EN-ISO 105-C06 mukaista pesujauhetta (AATCC 1993 Standard Refe-
rence Detergent WOB) sekoitettiin 4 g/l 40-asteiseen veteen. Linitest-laitteen näytenpurk-

keihin lisättiin 150 ml 40-asteista pesuaineliuosta, tutkittavat näytteet sekä 10 kpl teräskuulia, joiden halkaisija oli 6 mm. Näytepurkit asetettiin Linitest-laitteeseen ja annettiin laitteen käydä 40 °C lämpötilassa 30 minuuttia.

Linitest-laitteen pysähtyttyä näytteet huuhdeltiin 1 minuutin ajan kaksi kertaa erillisessä vesiastiassa, jossa oli 100 ml 40-asteista vettä. Huuhtelun jälkeen ylimääräinen vesi puristettiin näytteistä ja ne kuivatettiin kuivauskaapissa 60 asteessa 30 minuuttia niin, että testikangas kosketti monikuitukangasta ainoastaan ommellulta sivulta. Monikuitukan-kaan värinmuutokset ja näytepalan haalistuminen arvosteltiin instrumentaalisesti spektrofotometrillä (SFS-EN-ISO 105 A04 ja SFS-EN-ISO 105 A05). Monikuitukangasnäytettä verrattiin sellaiseen nollanäytteeseen, joka on pesty samalla testausmenetelmällä, mutta ilman värjäysnäytettä. Värjäysnäytettä verrattiin vastaavaan pesemättömään näytteeseen.

6.2.5 Värin hankauksen kesto

Värin hankauksen keston testi suoritettiin standardin SFS-EN-ISO 105-X12 mukaisesti. Testissä tarkastellaan, kuinka paljon värjätystä kankaasta irtoaa väriä hangatessa valkoiseen kankaaseen, kun hankauskangas on kuiva ja kun se on märkä. Hankauskan-kaan värin muutos arvioitiin instrumentaalisesti spektrofotometrillä (SFS-EN-ISO 105-A04). Värjätystä kankaasta leikattiin näytettä kohden yhteensä neljä 50 mm x 200 mm palaa; kaksi kuteen ja kaksi loimen suuntaisesti. Hankauskankaasta leikattiin yhtä monta 50 mm x 50 mm palaa. Näytteet asetettiin hankauksen keston testiä varten suunniteltuun laitteeseen, jossa näytteistä kahta (yksi kuteen suuntainen ja yksi loimen suuntainen) hangattiin kuivalla hankauskankaalla ja kahta märällä hankauskankaalla (kuva 19).

Kuivahankaus: Värjätty kangas kiinnitettiin alustaan, jossa oli veden kestävää hiomapa-peria estämässä kankaan liukumista. Hankauskangas kiinnitettiin hankaustappiin, joka kohdistaa värjättyyn näytteeseen 9 Newtonin voiman. Tappia hangattiin värjättyä kan-gasta vasten laitteen kammesta kääntämällä nopeudella 1 kierros/sekunti 10 kertaa eteenpäin ja 10 kertaa taaksepäin. Hankauskankaan värinmuutos arvioitiin spektrofoto-metrilla.

Märkähankaus: Värjätty kangas kiinnitettiin alustaan, jossa on veden kestävää hioma-paperia estämässä kankaan liukuminen. Värjätty kangas oli kuiva. Hankauskangas pun-nittiin ja kasteltiin sitten niin, että vettä imeytyi siihen 95-100 %. Veden imeytyminen var-mistettiin punnitsemalla hankauskangas uudelleen. Märkä hankauskangas kiinnitettiin

hankaustappiin ja näytettä hangattiin samoin kuin kuivahankauksessakin. Hankauskankaan annettiin kuivua huoneenlämmössä ja värinmuutos arvioitiin sitten spektrofotometrillä.



Kuva 19: Värin hankauksen keston testauslaite. Testattava kangas kiinnitetään alustaan ja valkoinen hankauskangas laitteen hankaustappiin. Hankauskankaan värinmuutos voidaan arvioida joko harmaa-asteikolla tai spektrofotometrisesti.

6.3 Mittausaineiston analysointi

Eri morsinkolajikkeita, uuttomenetelmiä ja pelkistysmenetelmiä verrattiin laskemalla näistä värjäystulosten ja värinkestotestien tulosten keskiarvoja. Kun halutaan tehdä johtopäätöksiä kahden toisistaan riippumattoman populaation eroista, voidaan niiden otosten keskiarvoja verrata eri keskiarvotesteillä. Keskiarvotestit kertovat, onko keskiarvojen ero tilastollisesti merkittävä. Yksi tehokkaimmista keskiarvotesteistä on t-testi: jos vertailtavissa otoskeskiarvoissa on eroja, se havaitaan varmimmin t-testillä. Sen käytössä on kuitenkin rajoitteita: mittauksen on oltava välimatka-asteikon tasoista ja testattavan populaation, erityisesti pienten otosten yhteydessä, tulisi noudattaa normaalijakaumaa. Otosten on myös oltava toisistaan riippumattomia. T-testi ei aseta rajoitteita otoskoille. Jos otoskoko kuitenkin on hyvin pieni ja otoksien varianssit eroavat voimakkaasti toisistaan, ei t-testi ole luotettava ja ei-parametrisen testin käyttö on suotavaa. (Ranta, Rita & Kouki, 1994, s. 185–192; Metsämuuronen, 2005, s. 365–371.)

Ei-parametriset testit eivät edellytä populaation normaalijakaumaa ja ne sopivat myös järjestysasteikolliselle datalle. Ei-parametrisista testeistä t-testiä vastaa Mannin-Whitney'n U-testi. Se on teholtaan lähes t-testin veroinen ja sitä tulisikin käyttää aina, jos epäillään t-testin edellytysten voimassaoloa (Ranta ym., 1994, s. 195). Käytännössä siis, mikäli otoskoko on niin pieni, ettei voida varmistua populaation normaalisuudesta, tai

mittaus on suoritettu välimatka-asteikkoa heikommalla mittarilla, on varmintä käyttää U-testiä (Metsämuuronen, 2005, s. 361).

U-testissä kahden riippumattoman otoksen havaintoaineisto yhdistetään ja asetetaan suuruusjärjestykseen. Havainnot korvataan sitten järjestysluvuillaan. Järjestysluvuista lasketaan testisuure U, joka ilmaisee kuinka monta kertaa otoksen A havainto edeltää otoksen B havaintoa. Jos nollahypoteesi on tosi, eli verrattavat keskiarvot tai mediaanit ovat yhtä suuret, ei kummankaan otoksen havaintojen tulisi olla systemaattisesti toisen otoksen havaintoja pienempiä, vaan havainnot ovat yhdistetyssä aineistossa sekaisin. (Ranta ym., 1994, s. 195).

U-testi mahdollistaa myös muunlaisten nollahypoteesien käytön. Mikäli havaintoarvot ovat vähintään välimatka-asteikollisia, voidaan testata nollahypoteeseja, jotka edellyttävät havaintojen kertomista vakiolla. Nollahypoteesi voisi esimerkiksi olla, että populaatiosta B mitattu ominaisuus on 1,2 kertaa niin suuri kuin populaatiossa A. Tällöin otoksen A havainnot kerrotaan 1,2 ja suoritetaan U-testi normaalisti. Mikäli keskiarvot nyt ovat yhtä suuret, nollahypoteesi hyväksytään. Tällaisten nollahypoteesien tarkastelu t-testillä voi olla ongelmallista, koska vakiolla kertominen muuttaa havaintojen varianssia. (Ranta ym., 1994, s. 201–202.)

Tässä tutkimuksessa otoskoot olivat hyvin pieniä, eikä niiden voida olettaa noudattavan normaalijakaumaa, joten keskiarvojen vertailut tehtiin Mann-Whitneyn U-testillä. Tilastollisen merkitsevyyden rajana käytettiin 5 prosentin merkitsevyytensä (p < 0,05).

7 Tulokset ja niiden tarkastelu

7.1 Värjäystulokset

Kaikki tässä tutkimuksessa värjätyt näytteet olivat hyvin vaalean sinisiä (kuva 20). Huonon värjäystulokseen on voinut vaikuttaa moni seikka. Kesä 2018 oli erittäin lämmin, minkä voi olettaa lisänneen indigon esiasteiden konsentraatiota morsingon lehdissä. Tähän tutkimukseen lehdet kerättiin kuitenkin varsin myöhään, vasta lokakuun lopulla, jolloin indigon esiasteet olivat jo varmasti vähentyneet lehdissä huomattavasti. Angelinin ym. (2007) tutkimuksessa erityisesti lämpimänä kesänä indigon esiasteiden määrä oli selvästi laskenut jo elokuun sadossa ja suurimmat indigon esiasteiden määrät havaittiin lehdissä, jotka oli kerätty päivän ollessa vielä mahdollisimman pitkä. Värjäystulokseen vaikutti heikentävästi myös se, ettei lehtiä ollut mahdollista uuttaa välittömästi keräämisen jälkeen, joten indigon esiasteita ehti todennäköisesti jonkin verran hajota lehdissä

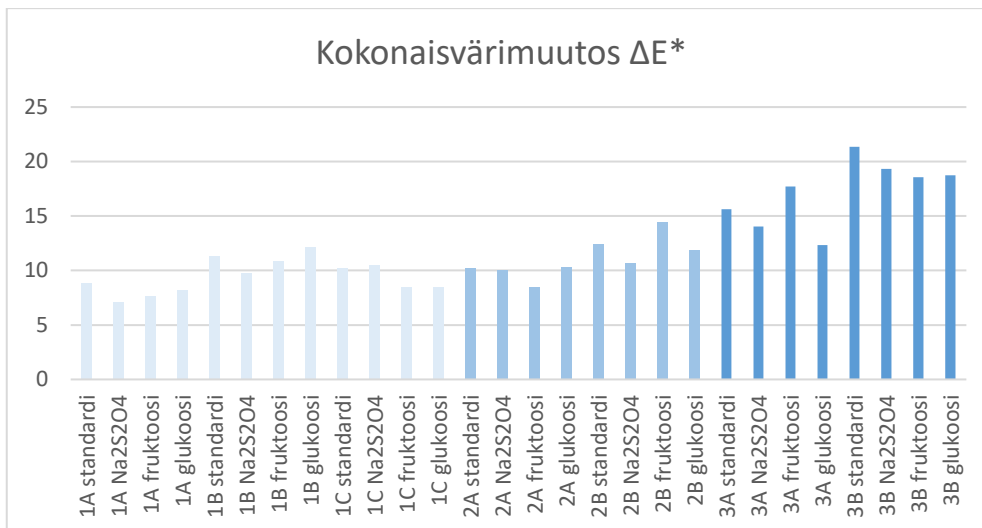
ennen uuttoa. Tätä pyrittiin vähentämään säilyttämällä kerätyt lehdet suljetuissa pusseissa viileässä tilassa yön yli ja aloittamaan uutto välittömästi seuraavana aamuna.

Koska indigon määrä uutoksissa oli odotettua pienempi, oli puolestaan kirjallisuuteen perustuva arvio tarvittavasta natriumhydroksidin määrästä todennäköisesti liian suuri. Värjäysliemien pH-arvot vaihtelivat noin 11,9 ja 12,5 välillä (liite 1), mikä on useiden tutkimusten perusteella hieman liian korkea puuvillan indigovärjäykseen (Blackburn ym., 2009; Božič & Kokol, 2008; Vuorema, 2008, s. 15). Korkeassa pH:ssa indigo esiintyy pääasiassa negatiivisesti varautuneessa di-ionimuodossaan, ja lisäksi puuvillan hydroksyliryhmät ionisoituvat. Kun sekä indigo että puuvilla ovat negatiivisesti varautuneita, ne hylkivät toisiaan ja värin siirtyminen kuituun on heikkoa. Liian korkea pH siis todennäköisesti heikensi värjäystuloksia. Myös pelkistimen määrä saattoi olla liian suuri vähäiseen indigomäärään suhteutettuna. Tämä voi aiheuttaa ns. ylipelkistymistä, joka myös heikentää värjäystulosta (Božič & Kokol, 2008; Blackburn ym., 2009; Bechtold & Pham, 2019, s. 280; Meksi ym., 2012).

Kuvassa 21 on kaikkien värjättyjen näytteiden kokonaisvärimuutos ΔE verrattuna esi-pestyyn värjäämättömään kankaaseen. Suurin kokonaisvärimuutos saatiin uuttamalla lajikkeen B pilkottuja lehtiä 30 minuuttia ja pelkistämällä indigo natriumditiioniitilla standardimenetelmällä. Pienin kokonaisvärimuutos taas saatiin uuttamalla lajikkeen A kokonaisia lehtiä 10 minuuttia ja pelkistämällä indigo ylisuurella natriumditiioniittimäärällä (10 g/l).

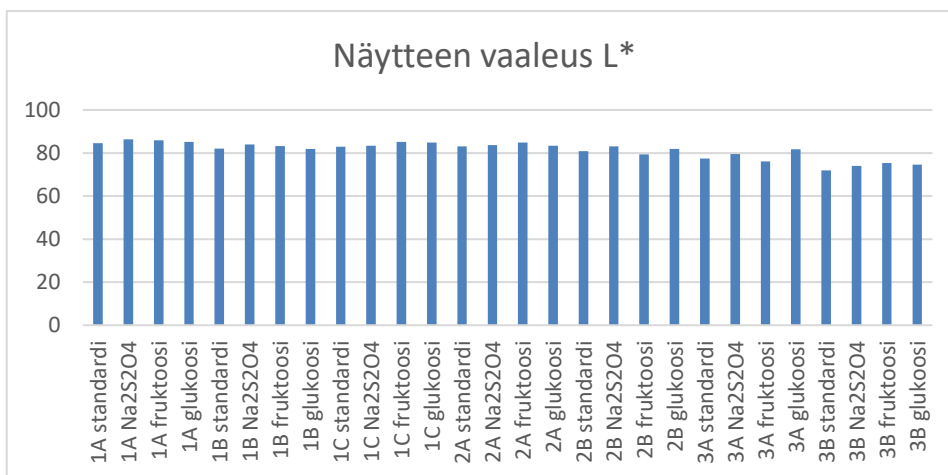


Kuva 20: Värjätty näytteet. Vasemmalla neljä ensimmäistä näytettä on uuton 1 ja lajikkeen A näytteet järjestyksessä: 1) standardipelkistys, 2) $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_4$, 3) fruktoosi ja 4) gluukoosi. Seuraavat neljä näytettä on uuton 1 lajikkeen B näytteet, seuraavaksi uutto 1 lajike C, uutto 2 lajike A, uutto 2 lajike B, uutto 3 lajike A ja uutto 3 lajike B niin, että näytteet ovat aina pelkistimen suhteen samassa järjestyksessä.



Kuva 21: Värjättyjen näytteiden kokonaisvärimuutos ΔE esipestyyn värjäämättömään kankaaseen verrattuna. Näytteet on nimetty niin, että nimen alussa oleva numero viittaa uuttomenetelmään (1 = kokonaiset lehdet, 10 min uutto aika, 2 = kokonaiset lehdet, 30 min uutto aika ja 3 = pilkotut lehdet, 30 min uutto aika), kirjain A, B ja C viittaa morsinkolajikkeeseen (A = korjuuaikakoe, B = riviväli- ja siemenmääräkoe, C = laji-kokeen koejäs- sen 6.) ja lopuksi on ilmoitettu pelkistin.

Kuvassa 22 on värjättyjen näytteiden L^* -arvo, eli näytteen vaaleus/valkoisuus. L^* voi saada arvoja väliltä 0-100 niin, että 100 on puhdas valkoinen ja 0 on neutraali musta. Koska värjäystulokset olivat hyvin vaaleita, on kaikkien näytteiden L^* -arvot ovat varsin suuria.

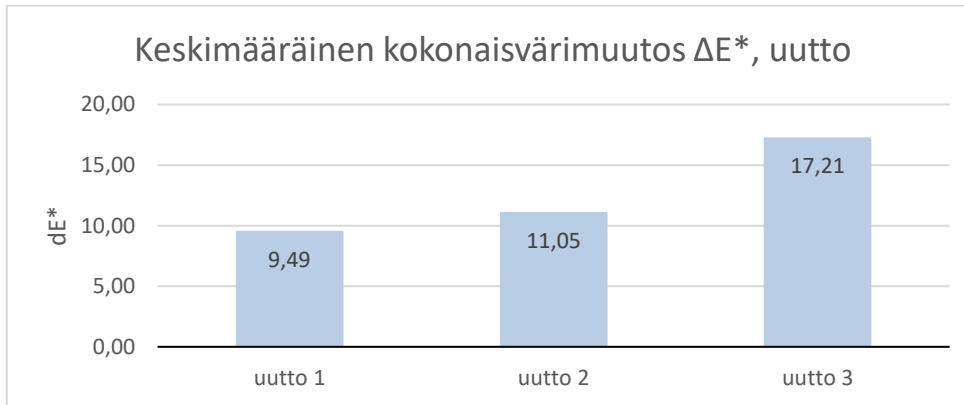


Kuva 22: Värjättyjen näytteiden vaaleus L^* . L^* :n arvot voivat vaihdella 0 ja 100 välillä, niin että 100 on puhdas valkoinen ja 0 neutraali musta.

7.1.1 Uttomenetelmät

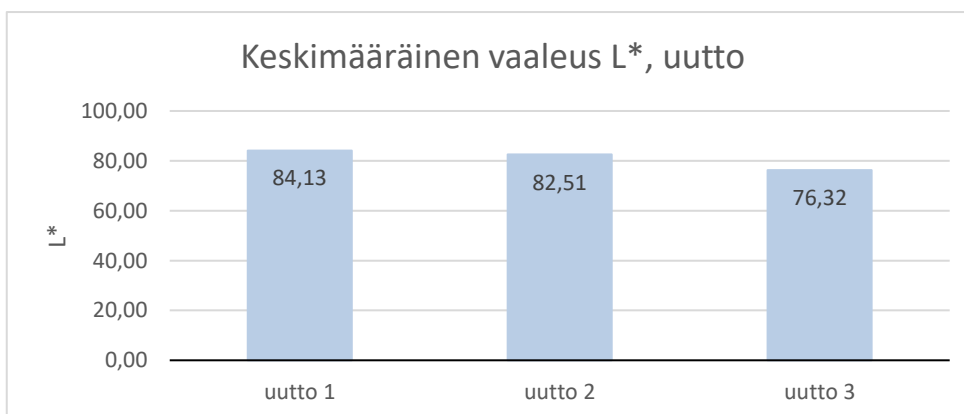
Kuvia 21 ja 22 silmämääräisesti tarkasteltaessa näytteiden kokonaisvärimuutoksessa ja L^* -arvoissa näyttäisi olevan eroa eri uuttomenetelmien välillä. Kuvassa 23 on laskettu eri uuttomenetelmien keskimääräiset kokonaisvärimuutokset värjäämättömään kankaaseen verrattuna. Uutossa 1 on tässä tarkastelussa mukana vain lajikkeet A ja B, jotta eri uutot ovat keskenään vertailukelpoisia. Keskiarvojen eroa tarkasteltiin U-testillä. Suurin

keskimääräinen kokonaisvärimuutos saatiin uutolla 3. Ero on tilastollisesti merkitsevä sekä uuttoon 1 ($p = 0,00$) että uuttoon 2 ($p = 0,001$) verrattuna. Uuton 1 ja 2 ero sen sijaan ei ole tilastollisesti merkitsevä ($p = 0,161$).



Kuva 23: Kokonaisvärimuutos esipestyyn värjäämättömään näytteeseen verrattuna keskimäärin eri uutomenetelmillä. Uutto 1: kokonaiset lehdet, 10 minuutin uuttoaika. Uutto 2: kokonaiset lehdet, 30 minuutin uuttoaika. Uutto 3: pilkotut lehdet, 30 minuutin uuttoaika. Uutossa 1 on mukana tässä tarkastelussa vain lajikkeet A ja B.

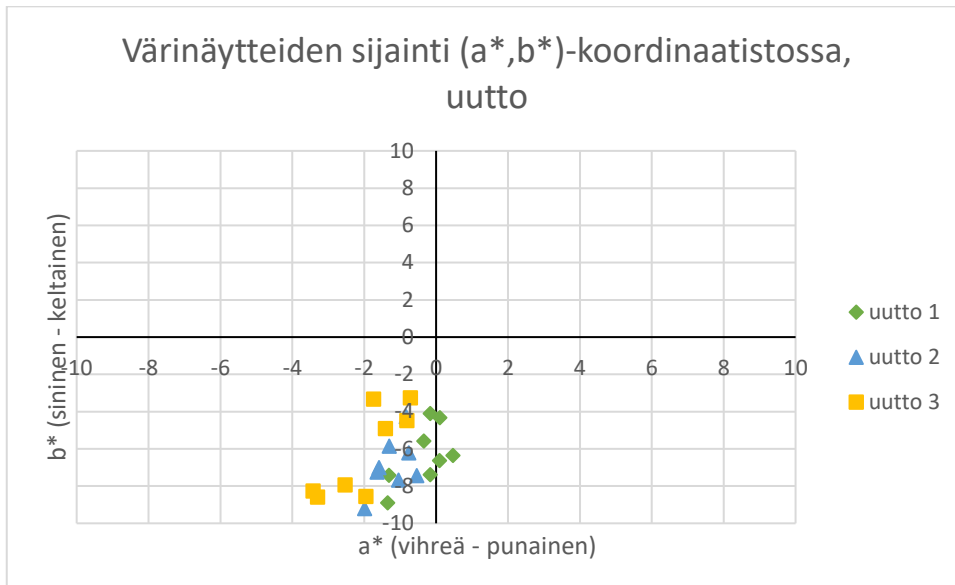
Kuvassa 24 on eri uutomenetelmien keskimääräiset L^* -arvot, eli näytteiden keskimääräinen vaaleus. Uutoissa 1 ja 2 keskimääräinen L^* -arvo on hyvin lähellä toisiaan eikä niiden välillä ole tilastollisesti merkitsevää eroa ($p_{12} = 0,083$). Sen sijaan uuton 3 näytteet ovat muita näytteitä tummempia. Ero on tilastollisesti erittäin merkitsevä ($p_{13} = 0,000$ ja $p_{23} = 0,001$).



Kuva 24: Eri uutomenetelmillä saatujen värinäytteiden keskimääräinen vaaleus L^* . Uutossa 1 on tässä tarkastelussa mukana vain lajikkeet A ja B.

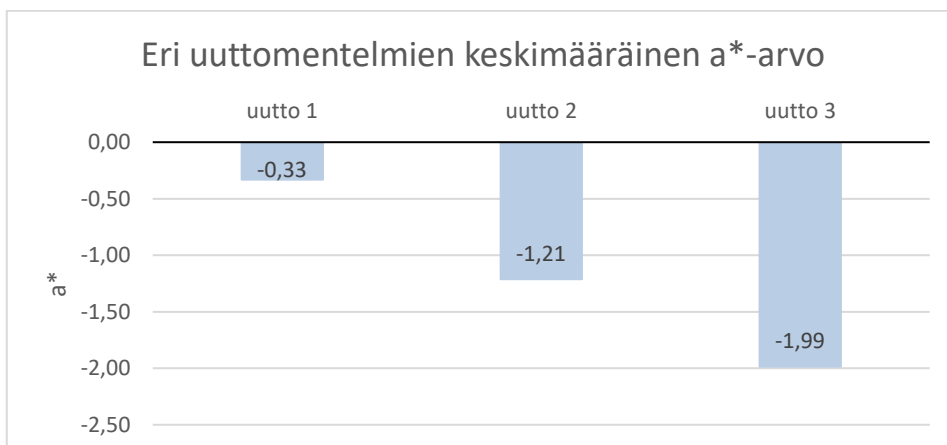
Kokonaisvärinmuutoksen ja vaaleuden lisäksi voidaan verrata näytteiden a^* - ja b^* -arvoja, eli näytteen sijaintia CIELAB-avaruuden (a^*, b^*)-koordinaatistossa (kuva 25). Uuton 1 näytteet asettuvat a^* -akselilla (vihreä – punainen) melko tasaisesti nollan ympäristöön. Uuton 2 ja 3 näytteet ovat a^* -akselilla negatiivisempia eli vihreämpiä, kuin uutossa 1.

Kaikkein vihreimmät värjäystulokset saatiin uutossa 3, eli pilkotoilla lehdillä 30 minuutin uuttoaajalla. b^* -akselilla (sininen – keltainen) kaikki näytteet asettuvat nollan alapuolelle, eli siniselle.

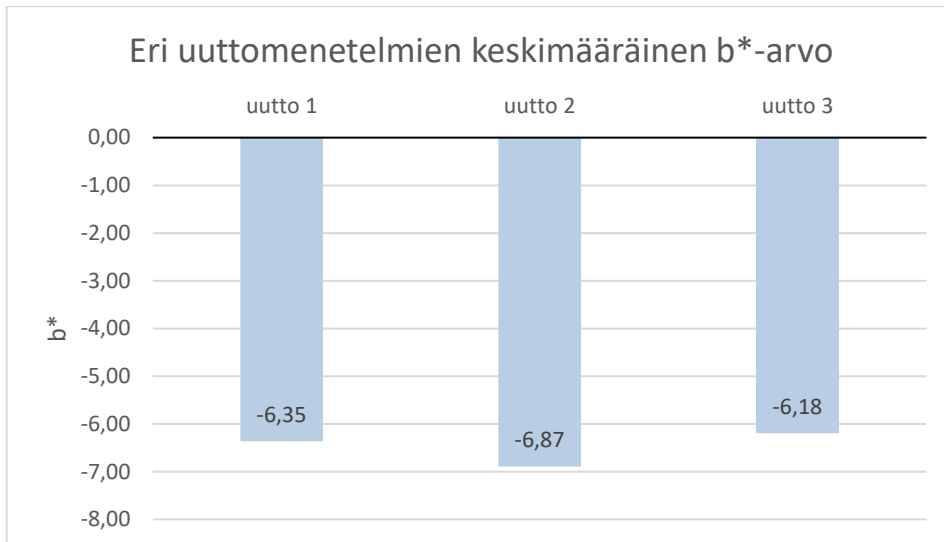


Kuva 25: Värinäytteiden sijainti CIELAB-avaruuden (a^* , b^*)-koordinaatistossa uuttomenetelmittäin. Uutossa 1 on tässä tarkastelussa mukana vain lajikkeet A ja B.

Kun vertaillaan eri uuttomenetelmillä saatujen värinäytteiden keskimääräisiä a^* - ja b^* -arvoja, nähdään, että erityisesti a^* -akselilla uuttojen välillä on eroja (kuva 26). Uuton 1 näytteet ovat selvästi vähemmän vihreitä kuin uutossa 2 ja 3. Erot ovat tilastollisesti merkitseviä ($p_{12} = 0,021$ ja $p_{13} = 0,002$). Uuton 3 näytteet ovat vihreämpiä kuin uuttoa 2, mutta tämä ero ei ole tilastollisesti merkitsevä ($p_{23} = 0,161$). b^* -akselilla erot ovat pienempiä (kuva 27). Uuton 2 näytteet ovat keskimäärin hieman sinisempiä, kuin uuttojen 1 ja 3 näytteet, mutta erot eivät ole tilastollisesti merkitseviä ($p_{12} = 0,505$, $p_{13} = 1,00$ ja $p_{23} = 0,878$).



Kuva 26: Keskimääräinen a^* -akselin arvo eri uuttomenetelmillä. Uutossa 1 on tässä tarkastelussa mukana vain lajikkeet A ja B.

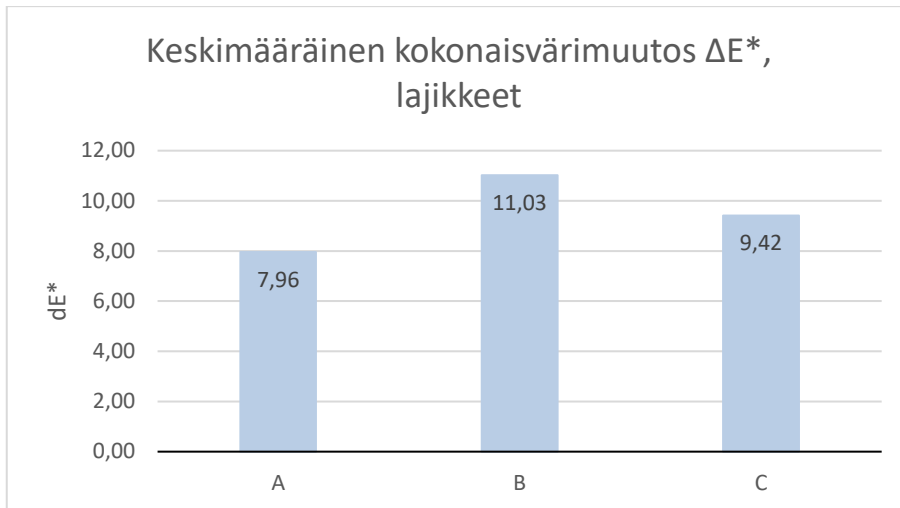


Kuva 27: Keskimääräinen b*-akselin arvo eri uuttomenetelmillä. Uutossa 1 on tässä tarkastelussa mukana vain lajikkeet A ja B.

Pidemmällä uuttoaajalla ja lehtien pilkkomisella saatiin siis voimakkaampi värjäystulos, mutta samalla näytteiden väri muuttui vihreämmäksi. Sen sijaan sininen – keltainen - akselin arvoon, eli b*-arvoon uuttomenetelmällä ei kuitenkaan ollut merkittävää vaikutusta, vaan kaikki näytteet olivat lähes yhtä sinisiä. Uuton 3 voimakkaampi ja vihreämpi väri saattoikin liittyä osittain myös morsingossa olevien muiden väriaineiden lisääntymiseen väriliemessä. Hartl, Gaibor, Van Bommel, ja Keijzer (2015) tarkastelivat tutkimuksessaan morsingosta saatavia toivottuja ja epätoivottuja värjäystuloksia, ja löysivät tuoreilla morsingonlehdillä värjäytystä näytteistä indigotiinin ja indirubiinin lisäksi mm. tuntemattoman indigotiinin kaltaisen sinivihreän komponentin sekä keltaisia flavonoideja. Tällaisten komponenttien lisääntyminen väriliemessä voisi johtaa havaittuun vihreämpään värjäystulokseen.

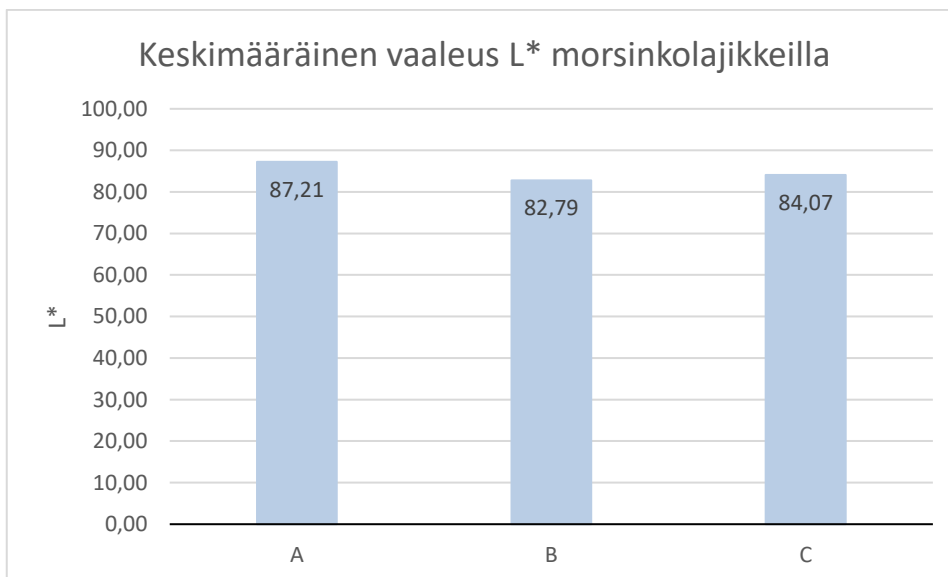
7.1.2 Morsinkolajikkeet

Värjäystulosta verrattiin myös eri morsinkolajikkeiden, A, B ja C, suhteen. Lajikkeiden vertailu tehtiin vain uuttoa 1 näytteistä. Suurin keskimääräinen kokonaisvärimuutos esi-pestyyn värjäämättömään kankaaseen saatiin lajikkeella B, toiseksi suurin kokonaisvärimuutos oli lajikkeella C ja pienin muutos lajikkeella A (kuva 28). Lajikkeen B kokonaisvärimuutos oli tilastollisesti merkitsevästi suurempi kuin lajikkeen A ($p_{AB} = 0,029$), mutta lajikkeen B ja C sekä A ja C välinen ero ei ollut tilastollisesti merkitsevä ($p_{BC} = 0,114$ ja $p_{AC} = 0,114$).



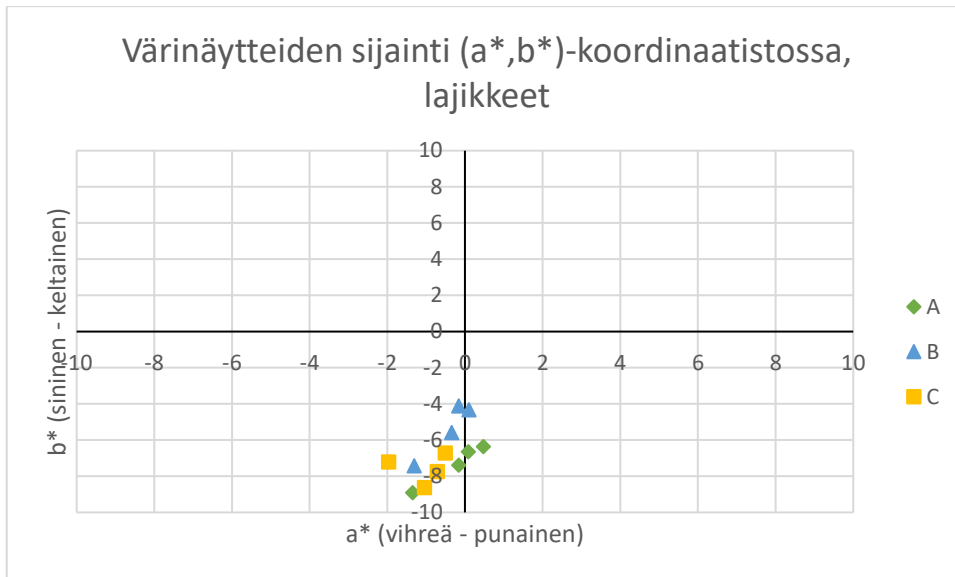
Kuva 28: Keskimääräinen kokonaisvärimuutos ΔE^* esipestyyn värjäämättömään kankaaseen verrattuna eri morsinkolajikkeilla. Tarkastelussa on mukana vain uuton 1 näytteet.

Uutossa 1 kaikkien kolmen lajikkeen L^* -arvot olivat varsin suuria, eli näytteet olivat hyvin vaaleita. Lajikkeella B keskimääräinen L^* -arvo oli pienin, eli näytteet olivat keskimäärin tummempia, kuin lajikkeilla A ja C (kuva 29). Lajikkeiden A ja B välinen L^* -arvojen ero oli tilastollisesti merkitsevä ($p_{AB} = 0,029$), mutta lajikkeiden A ja C sekä B ja C välinen ero ei ($p_{AC} = 0,114$ ja $p_{BC} = 0,200$).



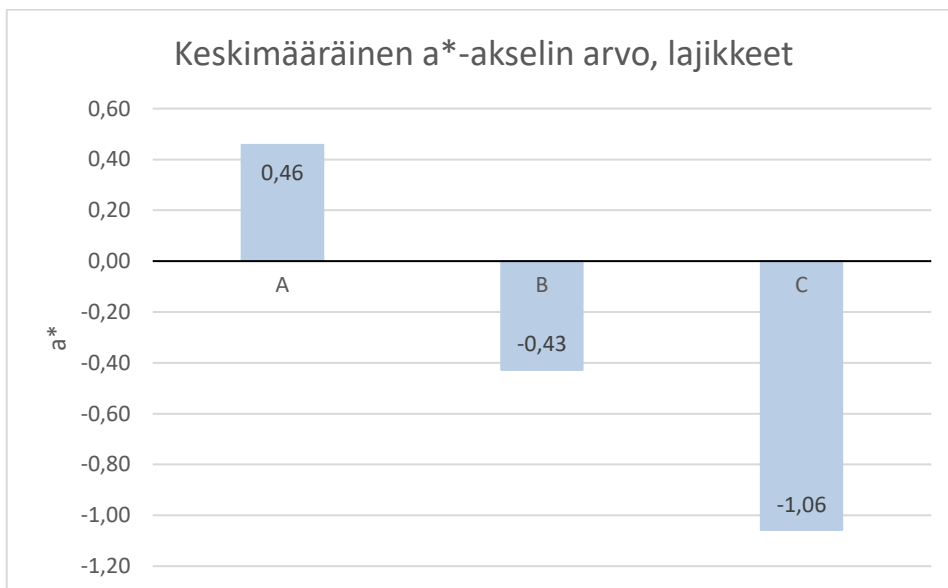
Kuva 29: Keskimääräinen L^* -arvo eli näytteiden vaaleus eri morsinkolajikkeilla. Tarkastelussa on mukana vain uuton 1 näytteet.

Kuvassa 30 esitetään näytteiden sijainti CIELAB-avaruuden (a^*, b^*)-koordinaatistossa morsinkolajikkeittain. Näytteet asettuvat melko lähelle toisiaan ja hajonta on pientä.



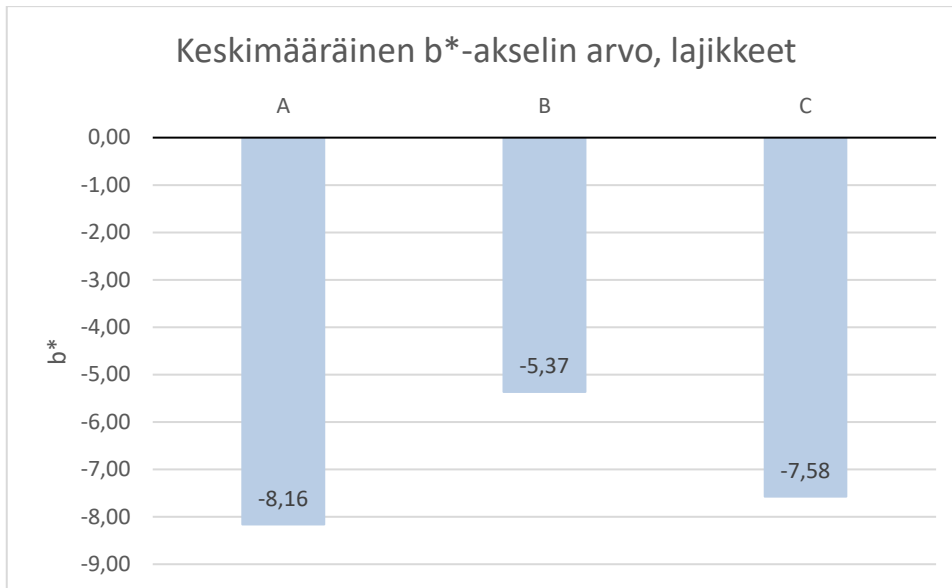
Kuva 30: Väriäytteen sijainti CIELAB (a*,b*)-koordinaatistossa eri morsinkolajikkeiden suhteen. Tarkastelussa on mukana vain uutun 1 näytteet.

Keskimääräisiä a* - arvoja tarkastellessa huomataan, että lajikkeen A näytteet asettuvat a*-akselilla keskimäärin positiiviselle puolelle, eli punaiselle, mutta lajikkeet B ja C negatiiviselle, eli vihreälle puolelle (kuva 31). Ero ovat kuitenkin hyvin pieniä, eivätkä ne ole tilastollisesti merkitseviä ($p_{AB} = 0,686$, $p_{AC} = 0,200$, $p_{BC} = 0,200$).



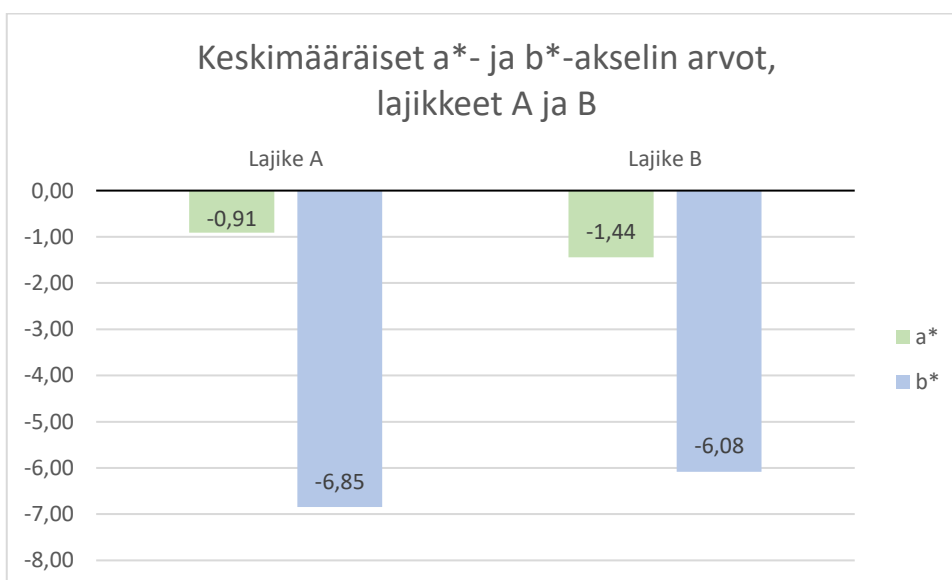
Kuva 31: Eri morsinkolajikkeiden väriäytteen keskimääräinen a*-akselin (vihreä – punainen) arvo. Tarkastelussa on mukana vain uutun 1 näytteet.

Sininen – keltainen -akselilla, eli b* -akselilla kaikki näytteet asettuvat nollan alapuolelle, eli siniselle. Suurimmat sinisen arvot saatiin lajikkeella A ja pienimmät lajikkeella B. Erot ovat kuitenkin pieniä, eivätkä ne ole tilastollisesti merkitseviä ($p_{AB} = 0,200$, $p_{AC} = 0,686$, $p_{BC} = 0,114$).



Kuva 32: Eri morsinkolajikkeiden värjäysnäytteiden keskimääräinen b*-akselin (sininen – keltainen) arvo. Tarkastelussa on mukana vain uuton 1 näytteet.

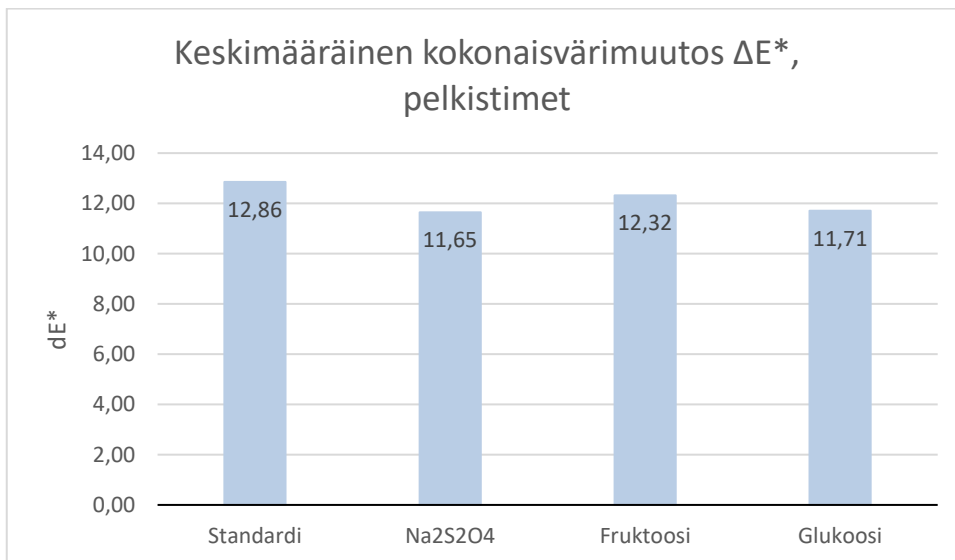
Lajikkeita A ja B verrattiin toisiinsa vielä niin, että mukana oli kaikkien uuttojen näytteet. Tällöin myös lajikkeella A CIELAB-avaruuden a*-akselin arvo oli negatiivinen, mutta muutoin tulokset olivat samanlaiset kuin pelkillä uuton 1 näytteilläkin: lajikkeen B kokonaisvärimuutos oli suurempi ja L*-arvo pienempi. Erot olivat tilastollisesti merkitseviä ($p_{\Delta E^*} = 0,020$ ja $p_{L^*} = 0,024$). Lajikkeen B näytteet olivat myös vihreämpiä ja vähemmän sinisiä kuin lajikkeen A (kuva 33), mutta erot olivat hyvin pieniä, eivätkä ne olleet tilastollisesti merkitseviä ($p_{a^*} = 0,242$, $p_{b^*} = 0,347$).



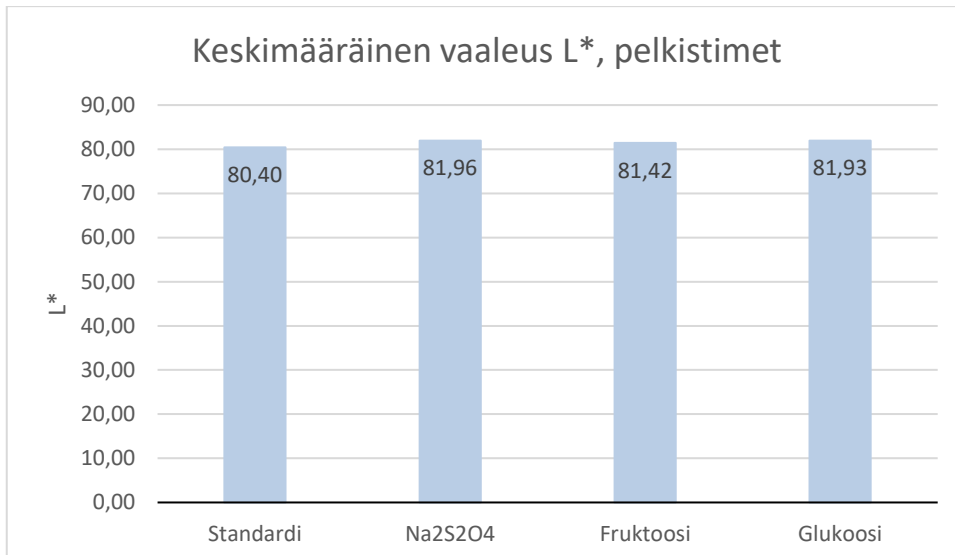
Kuva 33: Lajikkeiden A ja B keskimääräiset CIELAB-avaruuden a*- ja b*-akselien arvot. Vertailussa on mukana kaikki lajikkeiden A ja B näytteet.

7.1.3 Pelkistimet

Eri pelkistysmenetelmien suhteen tarkasteltuna suurin kokonaisvärimuutos esipestyyn värjäämättömään kankaaseen verrattuna saatiin ns. standardimenetelmällä, jossa pelkistimenä käytettiin natriumdioniittia 4 g/l, emästä (NaOH) oli 4 g/l, pelkistyslämpötila oli 50 °C ja pelkistysaika 10 min. Toiseksi suurin kokonaisvärimuutos saatiin fruktoosilla ja kolmanneksi suurin glukoosilla (10 g/l fruktoosia tai glukoosia, NaOH 12 g/l, pelkistyslämpötila 70 °C ja -aika 10 min). Pienin kokonaisvärimuutos saatiin natriumdioniitilla, kun sitä käytettiin ylimäärin (10 g/l) samoissa pelkistysolosuhteissa kuin sokereita (kuva 34). Erot olivat kuitenkin pieniä, eivätkä ne olleet tilastollisesti merkitseviä (taulukko 3). Tummimmat näytteet, eli pienin keskimääräinen L*-arvo, saatiin myös standardimenetelmällä, mutta myös L*-arvojen erot olivat pieniä, eivätkä ne olleet tilastollisesti merkitseviä (kuva 35, taulukko 3).

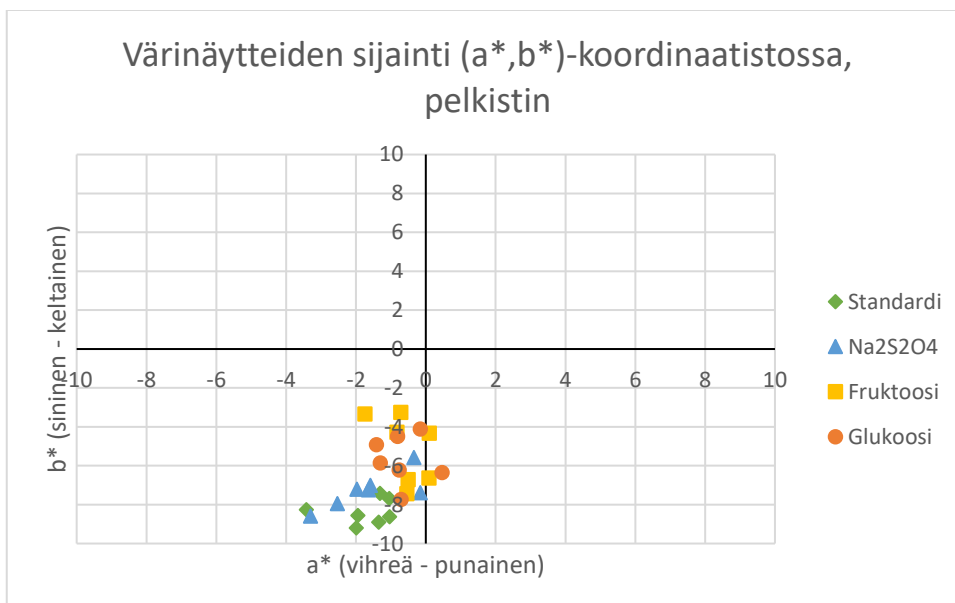


Kuva 34: Keskimääräinen kokonaisvärimuutos esipestyyn värjäämättömään kankaaseen verrattuna eri pelkistimillä.



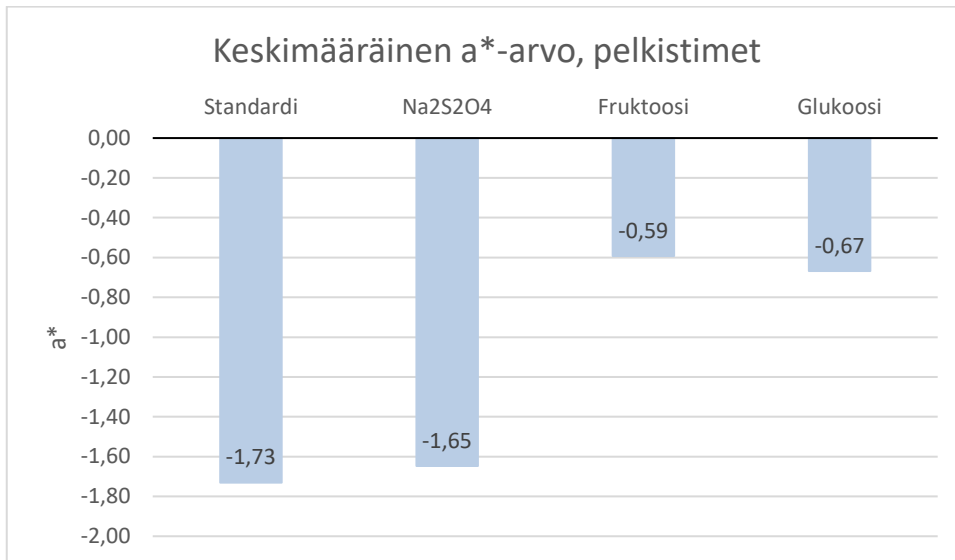
Kuva 35: Värinäytteiden keskimääräinen L*-arvo eli vaaleus eri pelkistimillä.

Kuvassa 36 on värinäytteiden sijainti CIELAB-avaruuden (a^* , b^*)-koordinaatistossa eri pelkistimillä. Fruktoosilla ja glukoosilla pelkistetyt näytteet asettuvat sekä a^* - että b^* -akselilla hyvin lähelle toisiaan. Samoin standardimenetelmällä ja natriumditioniitilla pelkistetyt näytteet asettuvat lähelle toisiaan, mutta hieman erilleen sokereilla pelkistetyistä näytteistä. Standardimenetelmällä ja natriumditioniitilla pelkistettyjen näytteiden a^* -arvo onkin enemmän negatiivinen, eli näytteet ovat vihreämpiä, kuin fruktoosilla tai glukoosilla pelkistetyissä näytteissä (kuva 37). Ero on tilastollisesti merkitsevä (taulukko 3). Glukoosilla pelkistetyt näytteet ovat hieman vihreämpiä kuin fruktoosilla pelkistetyt, mutta ero on pieni, eikä se ole tilastollisesti merkitsevä.

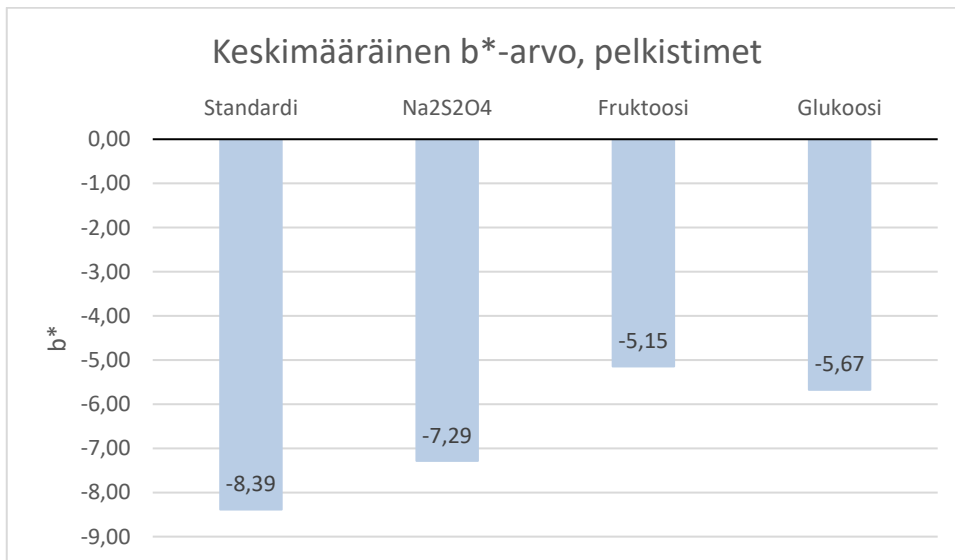


Kuva 36: Värinäytteiden sijainti CIELAB-avaruuden (a^* , b^*)-koordinaatistossa eri pelkistimillä.

b*-akselilla eniten negatiiviset, eli sinisimmät arvot saatiin standardimenetelmällä (kuva 38). Ero on tilastollisesti merkitsevää jokaiseen muuhun pelkistimeen verrattuna (taulukko 3). Myös natriumditioniitin ero sokereihin on tilastollisesti merkitsevää. Glukoosilla pelkistetyt näytteet olivat keskimäärin hieman fruktoosilla pelkistettyjä sinisempiä, mutta tämä ero ei ollut tilastollisesti merkitsevää (taulukko 3).



Kuva 37: Keskimääräinen CIELAB-avaruuden a*-arvo eri pelkistimillä pelkistetyillä näytteillä.



Kuva 38: Keskimääräinen CIELAB-avaruuden b*-arvo eri pelkistimillä pelkistetyillä näytteillä.

Taulukko 3: Eri pelkistimien ΔE^* -, L^* -, a^* - ja b^* -arvojen keskiarvovertailujen p-arvot. Tilastollisesti merkitsevät arvot on lihavoitu ($p < 0,05$).

	$p(\Delta E^*)$	$p(L^*)$	$p(a^*)$	$p(b^*)$
Standardi vs. $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_4$	0,535	0,318	1,000	0,017
Standardi vs. fruktoosi	0,620	0,456	0,007	0,001
Standardi vs. glukoosi	0,710	0,535	0,017	0,002
$\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_4$ vs. fruktoosi	0,902	1,000	0,128	0,026
$\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_4$ vs. glukoosi	0,902	0,805	0,073	0,038
Fruktoosi vs. glukoosi	1,000	1,000	0,710	0,620

Kun natriumditioniitilla, fruktoosilla ja glukoosilla pelkistettyjen näytteiden värjäystuloksia verrattiin standardimenetelmällä pelkistettyihin näytteisiin, olivat ne keskimäärin vaaleampia, vähemmän vihreitä ja vähemmän sinisiä (taulukko 4). Yksittäisissä tapauksissa saatiin muutamia standardimenetelmää hieman tummempia ja sinisempiä värjäystuloksia myös sokereilla (liite 2), mutta pääasiassa värjäystulokset olivat parempia standardimenetelmällä pelkistäessä.

Kun standardimenetelmää ja natriumditioniittia verrattiin keskenään, tehtiin tärkeä huomio. Molemmissa menetelmissä on sama pelkistin, mutta standardimenetelmässä natriumditioniittia on käytetty selvästi vähemmän. Natriumditioniitin lisääminen ei siis paranna värjäystulosta, vaan päinvastoin heikentää sitä. Liiallinen pelkistimen määrä voi johtaa indigon ylipelkistymiseen, joka heikentää värjäystulosta (Božič & Kokol, 2008; Blackburn ym, 2009; Bechtold & Pham, 2019, s. 280; Meksi ym., 2012).

Taulukko 4: Natriumditioniitilla, fruktoosilla ja glukoosilla pelkistettyjen näytteiden L^* -, a^* - ja b^* -arvojen keskimääräinen ero standardimenetelmällä pelkistettyihin näytteisiin. Positiivinen muutos tarkoittaa L^* -arvoissa vaaleampaa näytettä, ja a^* - ja b^* -arvoissa vähemmän vihreää/sinistä näytettä.

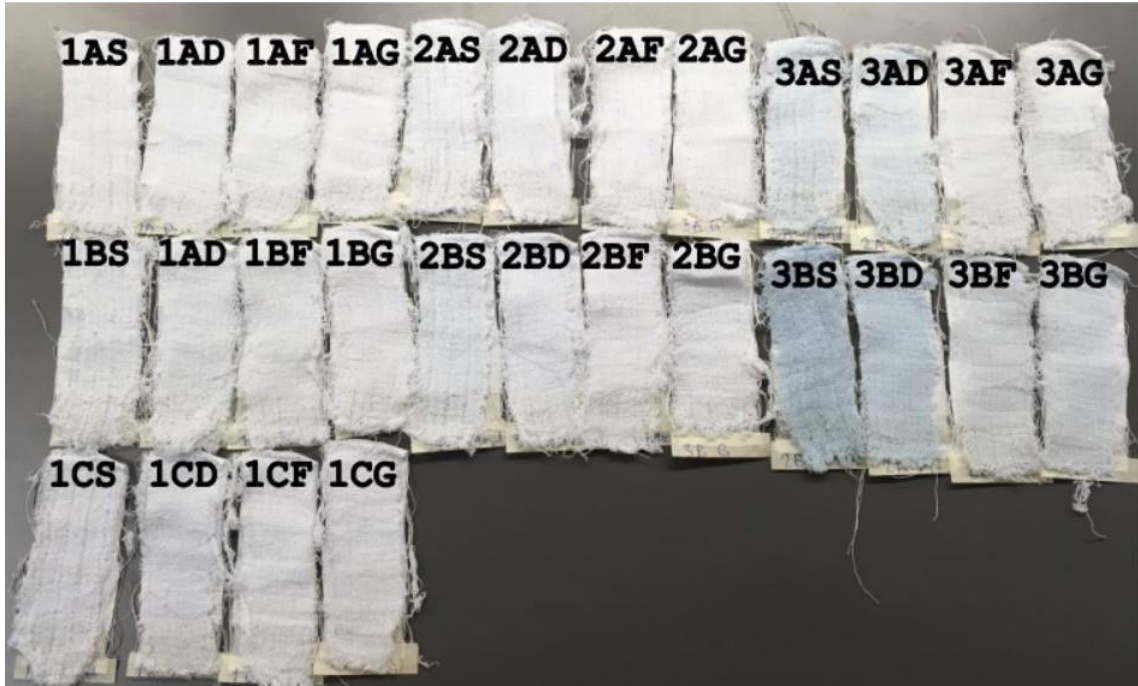
Pelkistin	dL^*	da^*	db^*
$\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_4$	2,17	0,16	1,36
Fruktoosi	3,29	1,60	2,22
Glukoosi	2,35	1,20	2,87

7.2 Värinkesto-ominaisuudet

7.2.1 Värin vesipesun kesto

Värin vesipesun keston testeissä tarkasteltiin värin haalistumista ja tahrivuutta monikuitukankaalle. Harmaa-asteikon arvot määriteltiin ensin laskennallisesti ja pyöristettiin sitten vastaamaan yhdeksänportaista asteikkoa, missä arvosana 1 on huonoin ja 5 paras.

Haalistumisen osalta näytteiden vesipesun kesto oli lähes kaikilla näytteillä heikko (liite 3). Kuvassa 39 on kaikki näytteet pestynä ja kuivatettuna. Monet näytteistä on lähes valkoisia, ja lähinnä uuton 3 näytteissä on selvemmin sinistä väriä jäljellä. Tosin erityisesti uuton 1 näytteet olivat alun alkaenkin hyvin vaaleita.

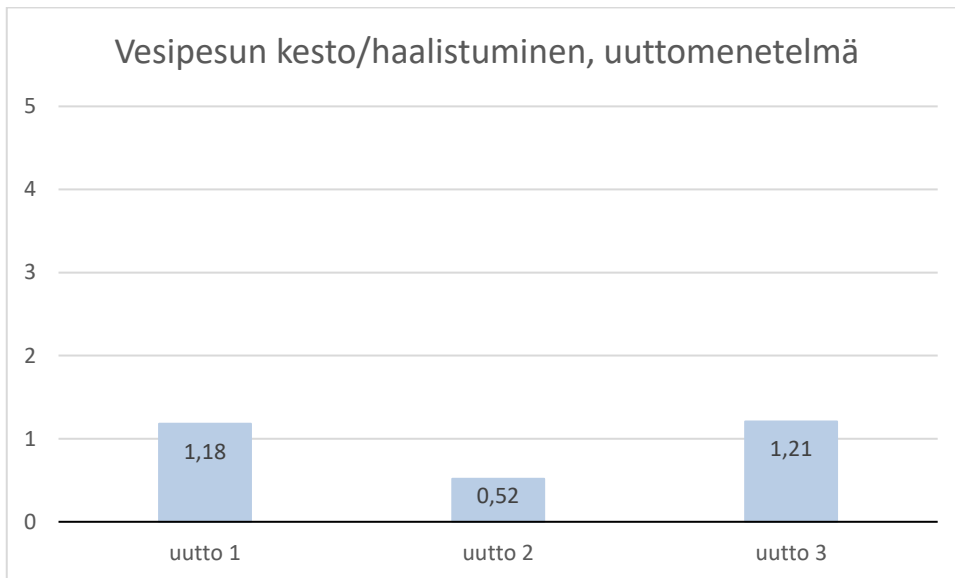


Kuva 39: Haalistuneet näytteet vesipesun keston testin jälkeen. Merkinnoissa numero viittaa uuttoon, ensimmäinen kirjain (A, B, C) morsi- ja pelkistyskokeeseen ja toinen kirjain pelkistykseen: S = standardimenetelmä, D = natriumdioniitti, F = fruktoosi ja G = glukoosi.

Laskennallisista harmaa-asteikon arvoista laskettiin haalistumisen arvosanojen keskiarvot eri uutoille, morsi- ja pelkistyskokeille ja pelkistimille. Uutoista paras keskimääräinen harmaa-asteikon arvosana saatiin uutolla 3, lähes yhtä hyvä arvosana uutolla 1 ja huonoin uutolla 2 (kuva 40). Uuttojen 1 ja 3 välinen ero ei ollut tilastollisesti merkitsevää ($p_{13} = 0,574$), mutta sen sijaan uuton 1 ja 2, sekä uuton 2 ja 3 väliset erot olivat tilastollisesti merkitseviä ($p_{12} = 0,003$ ja $p_{23} = 0,000$). Uutossa 1 hieman parempia arvosanoja saatiin erityisesti fruktoosilla ja glukoosilla pelkistetyillä näytteillä, mutta uutossa 3 taas päinvastoin standardimenetelmä ja natriumdioniitti antoivat sokereita paremman tuloksen. Uutossa 2 kaikki näytteet pärjäsivät yhtä huonosti.

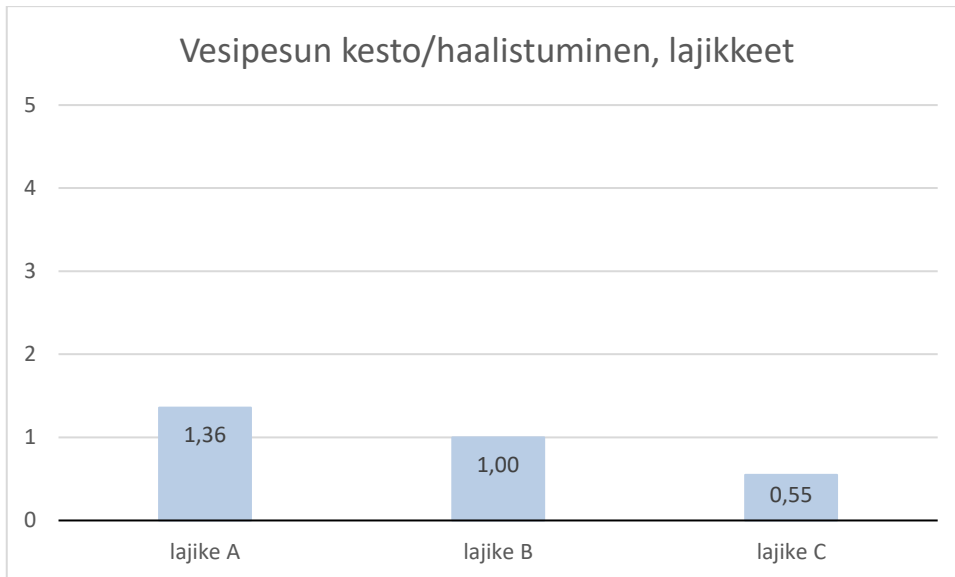
Uuttomenetelmällä on oletettavasti vaikutusta lähinnä siihen, kuinka paljon lehdistä saatiin eristettyä indigoa ja kuinka paljon mukana oli morsi- ja pelkistyskokeen muita väriaineita tai epätoivottujen sivureaktioiden myötä syntyneitä väriaineita, kuten esimerkiksi indirubiinia ja keltaisia flavonoideja. Uutossa 3, missä pilkottuja lehtiä uutettiin 30 minuuttia, saatiin suurimmat kokonaisvärinmuutokset sekä tummimmat näytteet. Paras vesipesun kesto

liittyikin luultavammin siihen, että myös värjäystulos oli näillä näytteillä paras. Uuton 1 hieman paremmat vesipesun kestot liittyivät taas lähinnä hyvin heikkoon värjäystulokseen. Laskennallinen harmaa-asteikon arvosana saadaan muun muassa kokonaisvärimuutoksen ΔE^* ja vaaleuden muutoksen ΔL^* avulla. Vaikka näyte olisi peseytynyt lähes valkoiseksi, jää pestyn ja pesemättömän näytteen välinen värimuutos silti melko pieneksi, kun värjätty näyte on alun perinkin hyvin vaalea ja huonosti värjäytynyt.

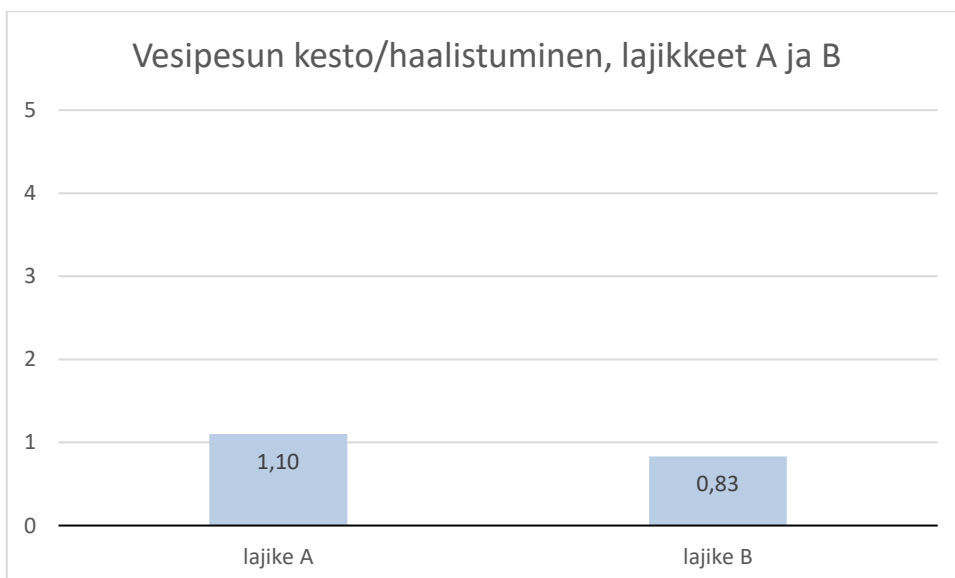


Kuva 40: Keskimääräinen näytteiden haalistumisen harmaa-asteikon arvo eri uuttomenetelmillä vesipesun keston testissä. Uutossa 1 on vertailussa mukana vain lajikkeet A ja B.

Eri morsinkolajikkeista paras harmaa-asteikon arvosana saatiin lajikkeella A ja heikoin lajikkeella C. Erot olivat kuitenkin melko pieniä, eivätkä ne olleet tilastollisesti merkitseviä ($p_{AB} = 0,886$, $p_{AC} = 0,114$, $p_{BC} = 0,057$). Keskiarvot laskettiin vain uuttoa 1 näytteistä. Lajiketta A ja B verrattiin myös toisiinsa niin, että vertailussa oli mukana kaikki näiden lajikkeiden näytteet (kuva 42), mutta ero pysyi suunnilleen samana, eikä se ollut tässä-kään vertailussa tilastollisesti merkitsevä ($p = 0,478$).

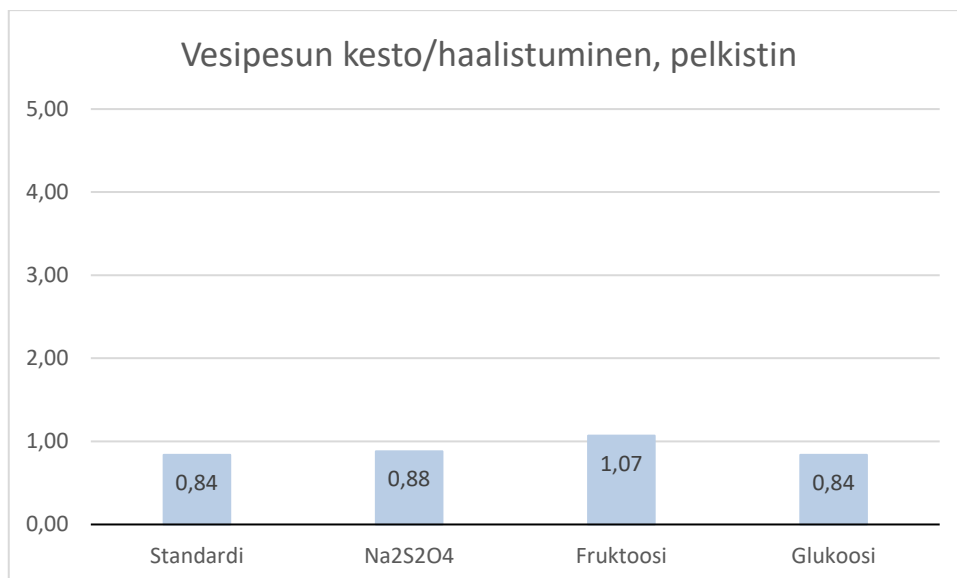


Kuva 41: Keskimääräinen näytteiden haalistumisen harmaa-asteikon arvo eri morsinkolajikkeilla vesipesun keston testissä. Vertailussa on mukana vain uuton 1 näytteet.



Kuva 42: Keskimääräinen näytteiden haalistumisen harmaa-asteikon arvo lajikkeella A ja B vesipesun keston testissä. Vertailussa on mukana lajikkeiden kaikki näytteet jokaisesta uutosta.

Eri pelkistimistä paras haalistumisen arvosana saatiin fruktoosilla ja heikoin glukoosilla sekä standardimenetelmällä (kuva 43). Pelkistimien erot olivat kuitenkin hyvin pieniä, eivätkä ne olleet tilastollisesti merkitseviä (taulukko 5).



Kuva 43: Keskimääräinen näytteiden haalistumisen harmaa-asteikon arvo eri pelkistimillä vesipesun keston testissä.

Taulukko 5: Eri pelkistimien vesipesun keston/haalistumisen harmaa-asteikon arvosanojen keskiarvovertailujen p-arvot.

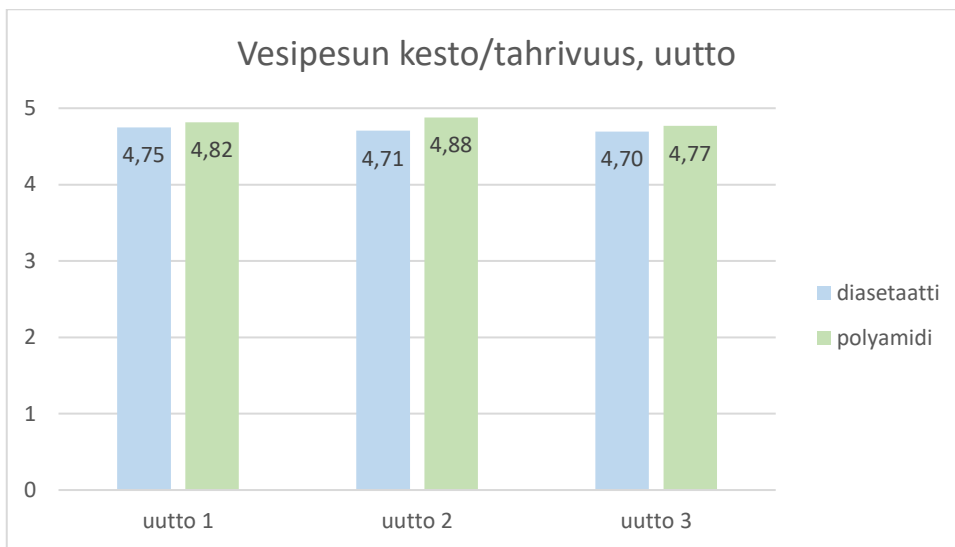
	p(GS)
Standardi vs. Na ₂ S ₂ O ₄	0,710
Standardi vs. fruktoosi	0,259
Standardi vs. glukoosi	0,383
Na ₂ S ₂ O ₄ vs. fruktoosi	0,620
Na ₂ S ₂ O ₄ vs. glukoosi	0,710
Fruktoosi vs. glukoosi	1,000

Vesipesun keston testissä värin tahrivuuden arvosanat olivat puolestaan kaikilla näytteillä erinomaisia. Polyesterillä, polyakryylillä ja villalla tahriutumisen arvosanat olivat kaikilla näytteillä 5, mikä on paras mahdollinen arvosana. Puuvillalla yksi näyte (uutto 2, lajike A, pelkistys glukoosilla) sai arvosanan 4-5, mikä on toiseksi paras arvosana, ja kaikki muut näytteet arvosanan 5. Diasetaatilla hieman alle puolet ja polyamidilla vajaa kolmannes näytteistä sai arvosanan 4-5 ja loput arvosanan 5.

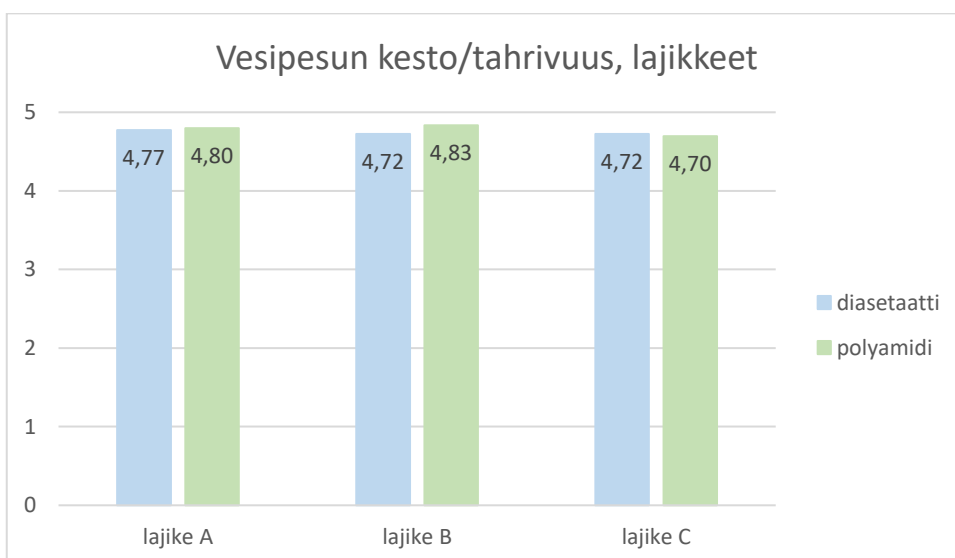
Keskimääräisiä harmaa-asteikon arvosanoja verrattiin diasetaatin ja polyamidin osalta eri uutoilla (kuva 44), morsinkolajikkeilla (kuva 45) ja pelkistimillä (kuva 46). Uuttojen välillä erot tahrivuudessa olivat diasetaatilla hyvin pieniä, eivätkä ne olleet tilastollisesti merkitseviä ($p_{12} = 0,798$, $p_{13} = 0,574$, $p_{23} = 0,959$). Samoin diasetaatilla morsinkolajikkeiden tahrivuuden erot olivat hyvin pieniä, eivätkä ne olleet tilastollisesti merkitseviä ($p_{AB} = 0,886$, $p_{AC} = 0,343$, $p_{BC} = 0,886$). Polyamidillakin sekä uuttojen että lajikkeiden väliset harmaa-asteikon arvosanojen erot olivat pieniä, mutta uuton 2 ja 3 välinen ero sekä lajikkeen B ja C välinen ero olivat kuitenkin tilastollisesti merkitseviä ($p_{23} = 0,002$ ja $p_{BC} =$

0,029). Muiden uuttojen sekä lajikkeiden väliset erot eivät polyamidilla olleet merkitseviä ($p_{12} = 0,083$, $p_{13} = 0,505$, $p_{AB} = 0,886$ ja $p_{AC} = 0,343$). Lajikkeiden vertailussa oli mukana vain uutto 1 näytteet.

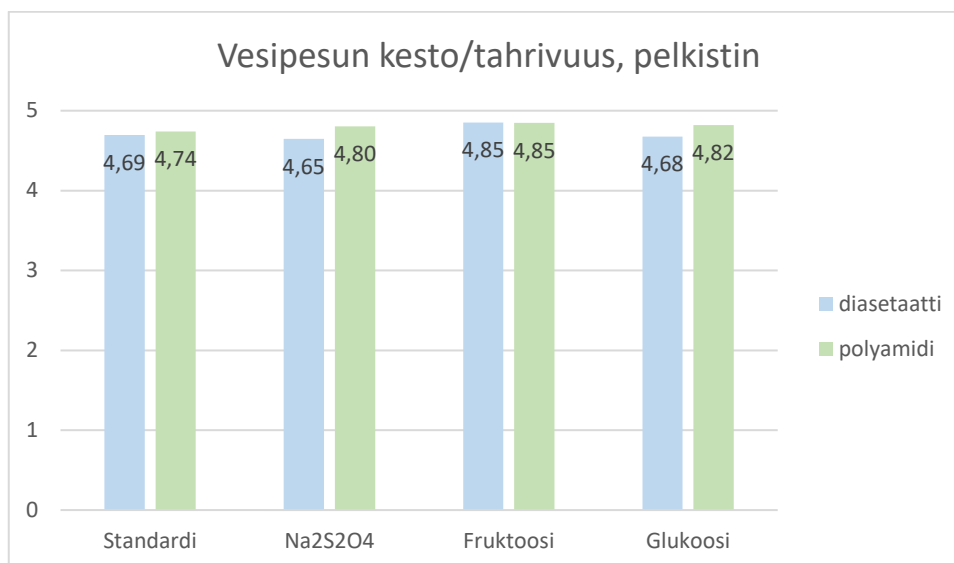
Diasetaatilla eri pelkistimistä parhaaseen tahrivuuden arvosanaan päästiin fruktoosilla (kuva 46). Fruktoosin ero muihin pelkistimiin oli tilastollisesti merkitsevää (taulukko 6). Muilla pelkistimillä arvosanat olivat hyvin lähellä toisiaan, eikä niiden välillä ollut tilastollisesti merkitseviä eroja. Polyamidilla eri pelkistimien väliset erot olivat diasetaattia pienempiä, eivätkä ne olleet tilastollisesti merkitseviä (taulukko 6).



Kuva 44: Diasetaatin ja polyamidin tahriutus eri uuttomenetelmillä keskimääräisinä harmaa-asteikon arvosanoina. Uutosta 1 on mukana vertailussa vain lajikkeet A ja B.



Kuva 45: Diasetaatin ja polyamidin tahriutus eri morsinkolajikkeilla keskimääräisinä harmaa-asteikon arvosanoina. Vertailussa on mukana vain uutto 1 näytteet.

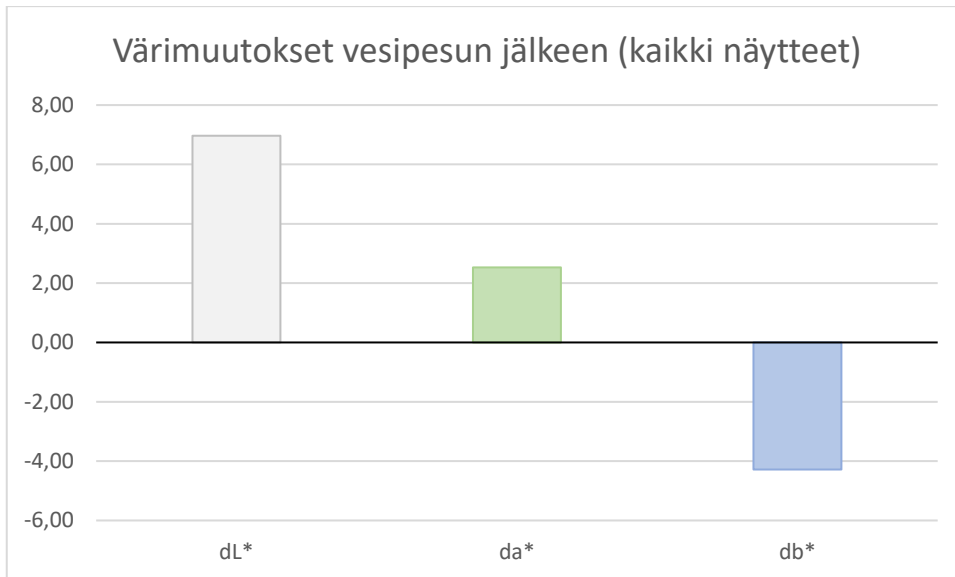


Kuva 46: Diasetaatin ja polyamidin tahriutuvuus eri pelkistimillä keskimääräisinä harmaa-asteikon arvosanoina.

Taulukko 6: Diasetaatin ja polyamidin tahriutuvuuden harmaa-asteikon arvosanojen keskiarvovertailujen p-arvot eri pelkistimillä. Tilastollisesti merkitsevät arvot ($p < 0,05$) on lihavoitu.

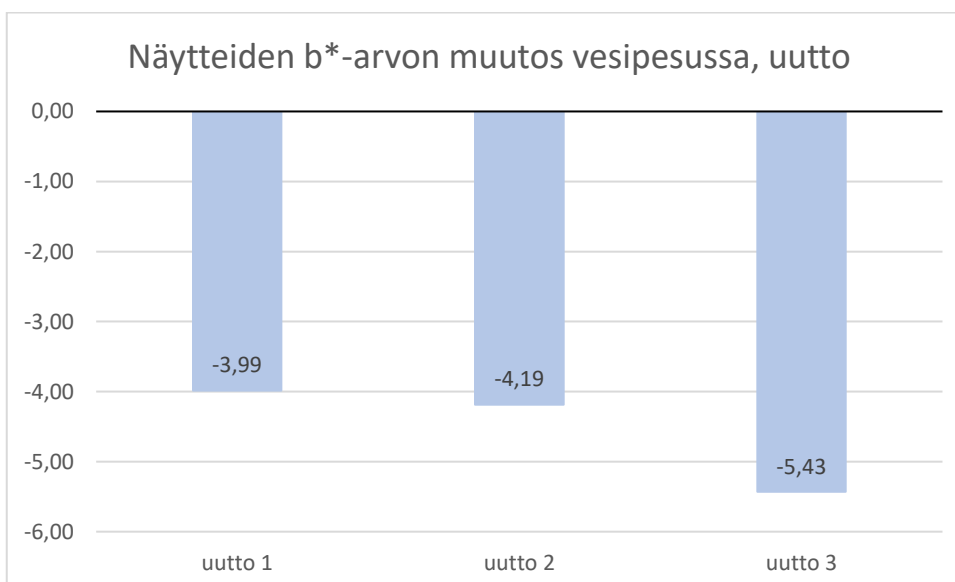
	p(GS) diasetaatti	p(GS) polyamidi
Standardi vs. Na ₂ S ₂ O ₄	0,710	0,318
Standardi vs. fruktoosi	0,026	0,073
Standardi vs. glukoosi	0,805	0,209
Na ₂ S ₂ O ₄ vs. fruktoosi	0,011	0,259
Na ₂ S ₂ O ₄ vs. glukoosi	0,805	0,710
Fruktoosi vs. glukoosi	0,011	0,318

Väriin haalistumisen ja tahrivuuden lisäksi mielenkiintoista vesipesun keston tarkastelussa on näytteiden väriin muuttuminen vesipesussa. Pestyt näytteet olivat odotetusti vaaleampia kuin pesemättömät näytteet, mutta ne olivat myös vähemmän vihreitä ja enemmän sinisiä (kuva 47). Näytteissä on oletettavasti ollut mukana myös morsingon muita väriaineita, kuten esimerkiksi keltaisia flavonoideja, jotka ovat lähteneet pesussa pois ja näytteiden väri on siten muuttunut.



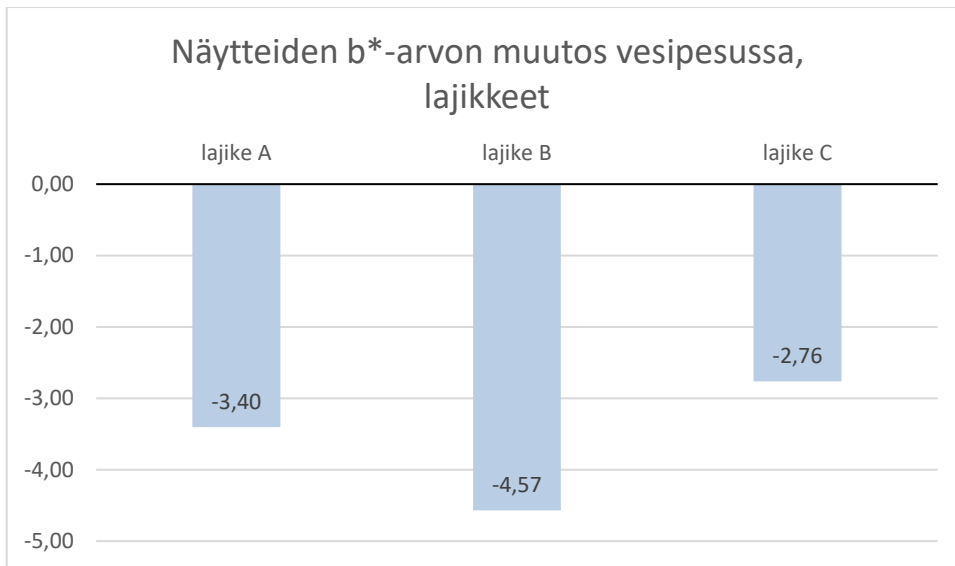
Kuva 47: Näytteiden keskimääräinen muutos L^{*}-, a^{*}- ja b^{*}-arvossa vesipesun jälkeen.

Erityisen mielenkiintoista on näytteiden värimuutokset b^{*}-akselilla, eli sininen – keltainen -akselilla. Kuvissa 48-50 on pestyjen näytteiden b^{*}-arvojen muutokset keskimäärin eri uutoilla, lajikkeilla ja pelkistimillä. Eri uuttomenetelmistä suurin muutos b^{*}-arvossa, saatiin uutolla 3. Lehtien pilkkominen on siis mahdollisesti lisännyt morsingon keltaisten väriaineiden määrää väriliemessä, jotka huuhtoutuivat pesussa pois, ja b^{*}-akselin arvot muuttuivat sinisemmiksi. Erot eivät kuitenkaan olleet tilastollisesti merkitseviä ($p_{12} = 1,000$, $p_{13} = 0,234$, $p_{23} = 0,105$).

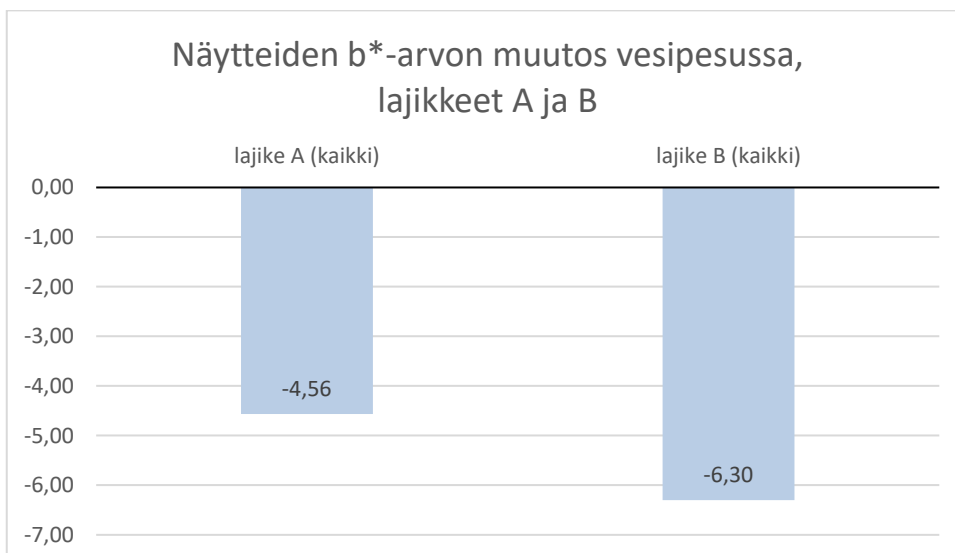


Kuva 48: Näytteiden b^{*}-arvon muutos vesipesussa keskimäärin eri uuttomenetelmillä. Uutosta 1 on vertailussa mukana vain lajikkeet A ja B.

Lajikkeista pesun myötä suurin muutos b^* -akselilla, eli sininen – keltainen -akselilla saatiin lajikkeella B (kuva 49). Lajikkeella B b^* -akselin arvo oli alun perin vähiten sininen, joten mahdollisesti tässä lajikkeessa keltaisten flavonoidien osuus oli suurempi kuin lajikkeilla A ja C. Nämäkään erot eivät kuitenkaan olleet tilastollisesti merkitseviä ($p_{AB} = 0,200$, $p_{AC} = 0,486$, $p_{BC} = 0,200$). Jos lajikkeita A ja B verrataan toisiinsa niin, että mukana on kaikki näiden lajikkeiden näytteet (kuva 50), kasvaa lajikkeiden välinen ero hieman ja ero on myös tilastollisesti merkitsevä ($p = 0,004$).

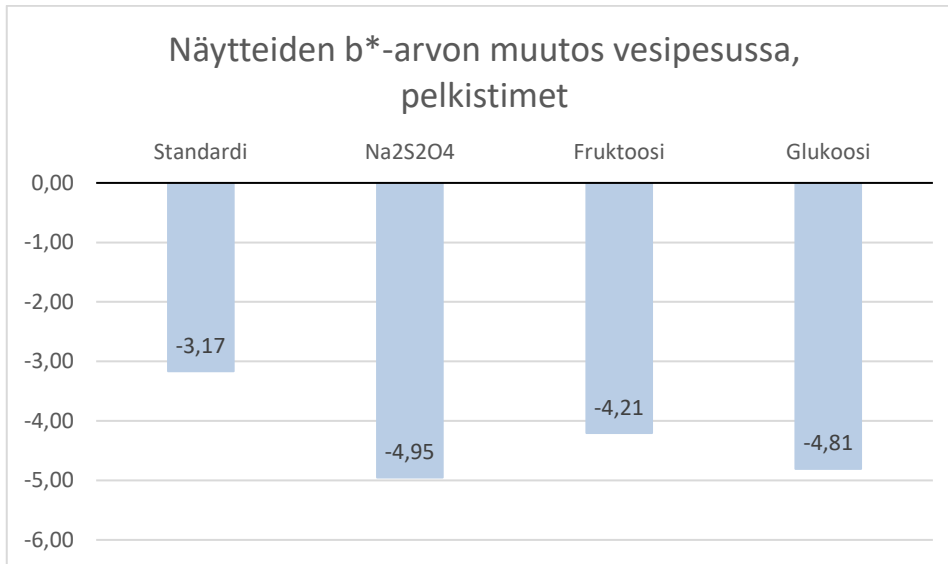


Kuva 49: Näytteiden b^* -arvon muutos vesipesussa keskimäärin eri lajikkeilla. Vertailussa on mukana vain uuton 1 näytteet.



Kuva 50: Näytteiden b^* -arvon muutos vesipesussa keskimäärin lajikkeilla A ja B, kun vertailussa on mukana kaikki näiden lajikkeiden näytteet.

Eri pelkistimien suhteen tarkastellessa keskimääräinen muutos b^* -akselin arvossa oli standardimenetelmällä pienempi, kuin muilla pelkistimillä (kuva 51). Standardimenetelmällä pelkistetyt näytteet olivatkin alun alkaenkin eniten sinisiä, joten siksi muutos b^* -akselilla on pienempi. Muilla pelkistimillä b^* -arvon muutokset olivat lähempänä toisiaan. Erot eivät olleet tilastollisesti merkitseviä (taulukko 7).



Kuva 51: Näytteiden b^* -arvon muutos vesipesussa keskimäärin eri pelkistimillä.

Taulukko 7: Näytteiden sininen – keltainen -akselin muutoksen keskiarvovertailun p-arvot eri pelkistimillä.

	$p(\Delta b^*)$
Standardi vs. Na ₂ S ₂ O ₄	0,053
Standardi vs. fruktoosi	0,259
Standardi vs. glukoosi	0,053
Na ₂ S ₂ O ₄ vs. fruktoosi	0,535
Na ₂ S ₂ O ₄ vs. glukoosi	0,902
Fruktoosi vs. glukoosi	0,620

Taulukossa 8 tarkastellaan näytteiden absoluuttisia L^* -, a^* - ja b^* -arvoja vesipesun jälkeen keskimäärin eri uuttomenetelmillä, lajikkeilla ja pelkistimillä. Uuttomenetelmistä vesipesun jälkeen sinisimmät ja tummimmat näytteet saatiin uutolla 3. Uuton 3 näytteillä myös a^* -akselin arvot ovat lähinnä nollaa, eli näytteissä ei ole juuri lainkaan vihreää tai punaista. Kun lajikkeita tarkastellaan vain uuton 1 osalta, saatiin sinisimmät näytteet lajikkeella A, mutta ne ovat samalla myös erittäin vaaleita. Jos taas tarkastellaan vain lajikkeita A ja B niin, että mukana on kaikki näiden lajikkeiden näytteet, ovat lajikkeen B näytteet selvästi sinisempiä. Yksittäisistä näytteistä sinisin tulos saatiin myös lajikkeella B (liite 5). Pelkistimistä sinisimmät näytteet saatiin natriumditioniitilla ja tummimmat näytteet standardimenetelmällä.

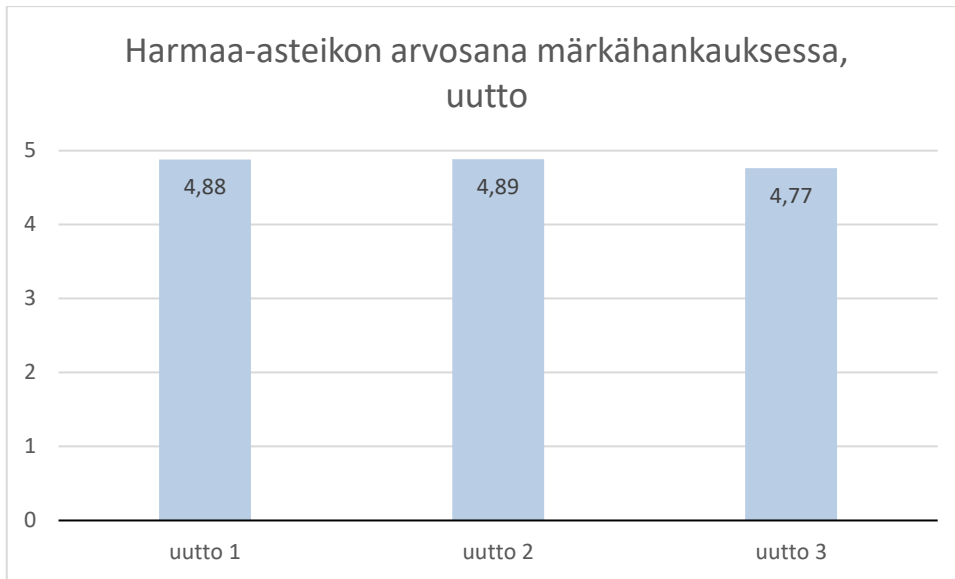
Taulukko 8: Näytteiden absoluuttiset L^{*}-, a^{*}- ja b^{*}-arvot vesipesun jälkeen keskimäärin eri uuttomenetelmillä, lajikkeilla ja pelkistimillä.

	L [*]	a [*]	b [*]
uutto 1	88,32	1,93	-9,75
uutto 2	88,18	1,65	-10,97
uutto 3	81,70	0,11	-11,60
lajike A (uutto 1)	89,33	2,36	-10,31
lajike B (uutto 1)	87,32	1,51	-9,20
lajike C (uutto 1)	88,46	2,16	-9,94
lajike A (kaikki)	84,07	0,79	-10,83
lajike B (kaikki)	79,34	-0,57	-12,37
Standardi	84,76	0,76	-11,29
Na ₂ S ₂ O ₄	86,29	1,06	-11,46
Fruktoosi	87,42	1,81	-9,84
Glukoosi	87,17	1,82	-10,02

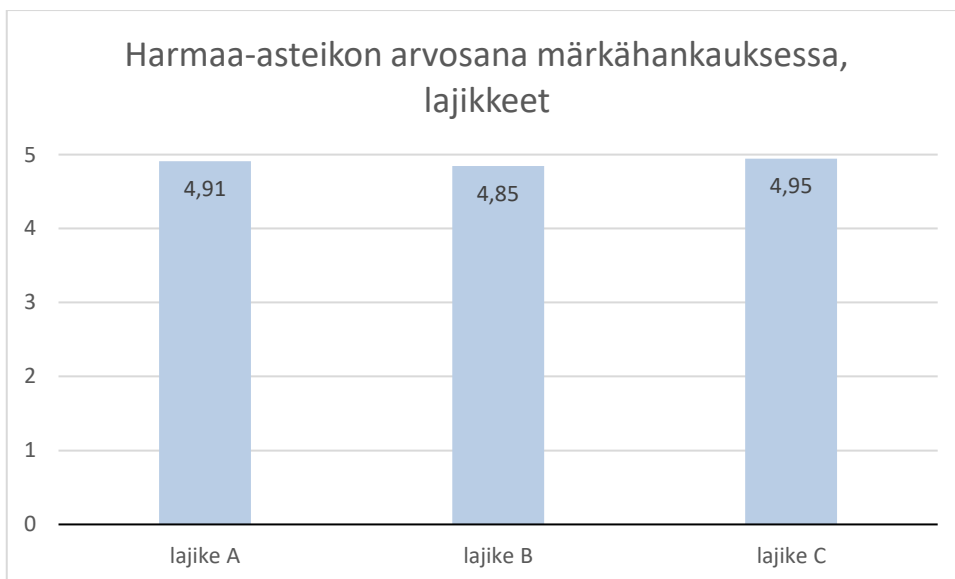
7.2.2 Väriin hankauksen kesto

Väriin näytteiden hankauksen kesto oli myös erinomainen. Kaikkien näytteiden väriin kuivahankauksen keston arvosana oli 5, mikä on paras mahdollinen arvosana. Märkähankauksessa muutamalla uuton 2 ja 3 näytteellä arvosanat olivat 4-5, mikä on asteikon toiseksi paras arvosana (liite 4). Märkähankauksen laskennallisista harmaa-asteikon arvoista laskettiin keskiarvot ja niitä verrattiin eri uuttojen, lajikkeiden ja pelkistimien välillä.

Uuton 3 märkähankauksen arvosanat olivat hieman uuttoja 1 ja 2 huonompia (kuva 52). Ero oli pieni, mutta tilastollisesti merkitsevä ($p_{13} = 0,003$ ja $p_{23} = 0,001$). Uuttojen 1 ja 2 välinen ero oli hyvin pieni, eikä se ollut tilastollisesti merkitsevä ($p_{12} = 0,696$). Morsinkolajikkeista lajikkeen B hankauksen keston arvosanat märkähankauksessa olivat hieman huonompia, kuin lajikkeen A ja C (kuva 53). Ero oli pieni, mutta tilastollisesti merkitsevä ($p_{AB} = 0,038$ ja $p_{BC} = 0,002$). Lajikkeiden A ja C välillä ei ollut tilastollisesti merkitsevää eroa ($p_{AC} = 0,161$). Vertailussa oli mukana vain uuton 1 näytteet. Kun lajikkeita A ja B verrattiin keskenään niin, että mukana oli kaikki kyseisten lajikkeiden näytteet, kasvoi ero (kuva 54) ja sen tilastollinen merkitsevyys hieman ($p = 0,000$).



Kuva 52: Keskimääräinen harmaa-asteikon arvosana värin hankauksen keston testissä eri uutoilla. Uutosta 1 on vertailussa mukana vain lajikkeet A ja B.

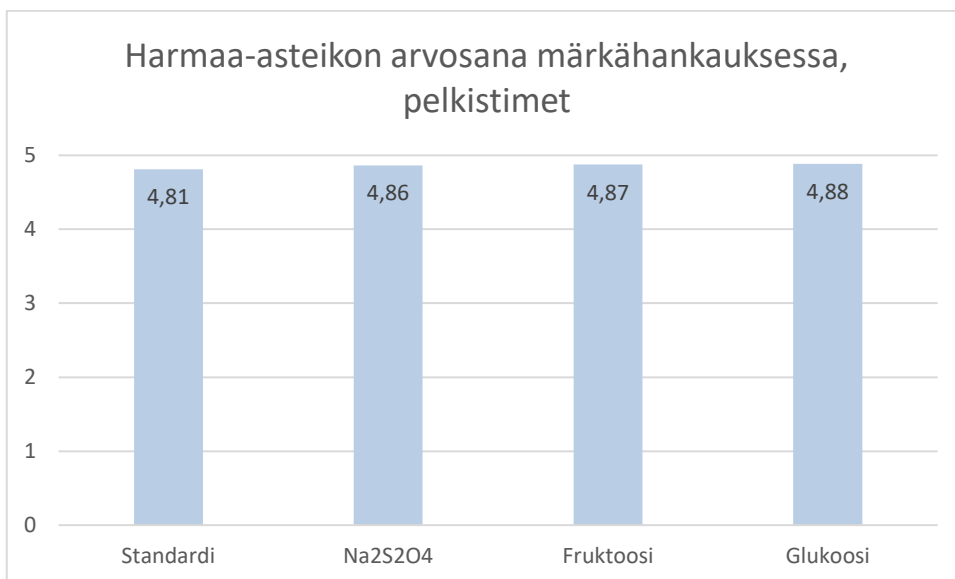


Kuva 53: Keskimääräinen harmaa-asteikon arvosana värin hankauksen keston testissä eri morsinkolajikkeilla. Vertailussa mukana vain uuton 1 näytteet.



Kuva 54: Keskimääräinen harmaa-asteikon arvosana värin hankauksen keston testissä morsinkolajikkeille A ja B. Vertailussa on mukana kaikki kyseisten lajikkeiden näytteet.

Erot värin hankauksen kestossa eri pelkistimien välillä olivat hyvin pieniä (kuva 55). Paras arvosana saatiin glukoosilla ja huonoin standardimenetelmällä. Näiden kahden pelkistimen välinen ero oli tilastollisesti merkitsevä, mutta muiden pelkistimien väliset erot eivät olleet (taulukko 9).



Kuva 55: Keskimääräinen harmaa-asteikon arvosana värin hankauksen keston testissä eri pelkistimille.

Taulukko 9: Väriin hankauksen keston eri pelkistimien välisen keskiarvovertailun p-arvot. Tilastollisesti merkitsevä arvo on lihavoitu ($p < 0,05$).

	p(GS)
Standardi vs. $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_4$	0,150
Standardi vs. fruktoosi	0,069
Standardi vs. glukoosi	0,024
$\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_4$ vs. fruktoosi	0,511
$\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_4$ vs. glukoosi	0,511
Fruktoosi vs. glukoosi	0,874

Hieman heikommat väriin hankauksen keston arvosanat näyttävät liittyvän lähinnä värjäystulokseen. Niillä näytteillä, joilla värjäystulos oli parempi, oli väriin hankauksen keston arvosana hieman muita huonompi. Tulos on looginen. Näytteistä, joissa oli väriä alun alkaenkin hyvin vähän, ei siirtynyt väriä juurikaan hankauskankaaseen, joten hankauksen keston arvosana on erinomainen. Paremmin värjäytyneissä näytteissä väriä oli enemmän, joten sitä pääsi siirtymään enemmän myös hankauskankaaseen.

8 Tutkimuksen luotettavuus

Kvasikokeellisessa tutkimuksessa tutkimuksen luotettavuutta arvioidaan sisäisen ja ulkoisen validiteetin avulla. Ulkoisella validiteetilla tarkoitetaan tulosten edustavuutta ja yleistettävyyttä, eli sitä, voidaanko niitä yleistää toisiin samanlaisiin olosuhteisiin ja kohteisiin. Sisäinen validiteetti puolestaan kertoo siitä, johtuvatko erot tässä tutkimustilanteessa nimenomaan suoritetuista kokeista, vai jostain muusta, ja tuottaako muuttujien koettelu tässä tutkimuksessa tarvittavat muuttujien sisäiset ja väliset erot. Sisäinen validiteetti on siis koko kvasikokeellisen tutkimuksen metodologian päätavoite. (Anttila, 2005, s. 273.)

Tämän tutkimuksen tulosten yleistettävyyttä heikentää se, että morsingon lehdet poimitiin vasta aivan kasvukauden lopussa, tyypillisen satokauden ulkopuolella. Parempaan yleistettävyyteen olisi päästy tekemällä tutkimus ns. pääsadon lehdistä esimerkiksi elokuussa, mutta tämän tutkimuksen aikataulun kannalta se ei ollut mahdollista. Tutkituissa lehdissä indigon esiasteiden määrä oli vähentynyt jo selvästi, joten värjäyskokeet eivät anna todellista kuvaa indigon esiasteiden määrästä näissä morsinkolajikkeissa yleensä. Tutkimuksen luotettavuuteen vaikuttaa myös se, että lehtimateriaalista ei ollut mahdollista valita vain tietyn kokoluokan lehtiä. Eri lajikkeilla lehtimateriaalin kokojakaumassa oli jonkin verran eroa, mikä on voinut vaikuttaa värjäystuloksiin. Toisaalta lajikkeella C, jossa oli kokojakauman pienimmät lehdet, ei kuitenkaan saatu parhaita värjäystuloksia,

vaikka tavallisesti nuoremmista lehdissä onkin enemmän indigon esiasteita kuin vanhemmissa lehdissä (Kokubun ym., 1998). Lajikkeiden välillä on siis varmasti muitakin kuin vain lehtien ikä- ja kokojakaumasta johtuvia eroja.

Morsingonlehtien uutto-olosuhteet vaikuttavat niin indigon saantoon kuin epätoivottujen sivureaktioiden esiintymiseenkin. Muun muassa veden kovuus voi olla sellainen tekijä, joka vaikuttaa uuton onnistumiseen (Siitonen, 2010). Veden kovuuden vaikutusta voisi tutkimusolosuhteissa eliminoida käyttämällä esimerkiksi deionisoitua vettä. Koska tämän tutkimuksen tarkoituksena oli kuitenkin tarkastella erityisesti kotivärjärille ja käsityönopeutukseen soveltuvia indigovärjäysmenetelmiä, koettiin deionisoidun veden käyttö turhaksi. Käytetty Helsingin kaupungin vesijohtovesi oli kuitenkin jokaiselle näytteelle samanlainen, joten vaihtelua näytteiden välille ei siitä aiheutunut. Liitteenä 6 on vesilaitoksen analyysi veden ominaisuuksista värjäyksen ajankohdalta.

Lämpötilalla on merkitystä niin uutossa kuin indigon pelkistyksessä ja värjäyksessäkin. Värjäyslämpötila oli kaikille näytteille tasainen, sillä se on säädettävissä Linitest-laitteen termostaatin avulla. Sen sijaan uutto- ja pelkistyslämpötilan säätelyyn ei ollut käytettävissä vastaavaa tekniikkaa, vaan uutoveden sekä pelkistyksessä käytetyn vesihautteen lämpötilaa seurattiin paristokäyttöisillä lämpömittareilla ja pyrittiin säätämään sähkölieden lämmitystehoa niin, että veden lämpötila pysyi tasaisena. Sekä uutossa että pelkistyksessä veden lämpötila vaihteli kuitenkin hieman pysyen kuitenkin noin viiden asteen vaihteluvälillä tavoitellusta lämpötilasta. Samoin värin vesipesun keston testissä pesulämpötila saatiin säädettyä kaikille näytteille samaksi Linitest-laitteella, mutta huuhteluveden lämpötilaa kontrolloitiin paristokäyttöisillä lämpömittareilla ja näin ollen niissä esiintyi pientä vaihtelua.

Värin vesipesun ja hankauksen keston testeissä tutkimuksen luotettavuutta pyrittiin parantamaan suorittamalla testien arvostelu instrumentaalisesti spektrofotometrillä. Vaihtoehtoisesti näytteet voitaisiin arvioida visuaalisesti harmaa-asteikon avulla, mielellään kahden riippumattoman arvioijan toimesta. Koska käytettävissä olisi ollut vain yksi melko kokematon arvioija, todettiin instrumentaalinen arviointi luotettavammaksi menetelmäksi.

Rinnakkaisnäytteiden tekeminen lisäisi tutkimuksen luotettavuutta. Tässä tutkimuksessa vertailtavia muuttujia oli kuitenkin niin paljon, että työmäärän rajaamisen vuoksi kullakin uutto-, morsinkolajike- ja pelkistinyhdistelmällä värjättiin vain yksi näyte. Näytteiden määrää rajoitti myös saatavilla olleen lehtimateriaalin määrä. Ilman rinnakkaisnäytteitäkin eri

uuttomenetelmien vertailuun saatiin kuitenkin kahdeksan näytettä uuttoa kohden ja pelkistinten vertailuun seitsemän näytettä pelkistintä kohden. Morsinkolajikkeista näytteitä saatiin vain neljä kutakin lajiketta kohden, mikä vähentää tutkimuksen luotettavuutta lajikkeiden osalta.

Koska indigovärjäys on perinteistä pureteväjärjäystä selvästi monimutkaisempi ja vaikeampi prosessi, vaatii se siksi värjäritä enemmän taitoa. Tämänkin vuoksi useampien rinnakkaisnäytteiden värjääminen olisi parantanut tutkimuksen luotettavuutta, jotta värjärein kokemattomuudesta mahdollisesti johtuva vaihtelu värjäystuloksissa vähenisi. Koska lehtimateriaalia oli kuitenkin rajallinen määrä, pyrittiin tätä kokemattomuudesta johtuvaa vaihtelua vähentämään esitestaamalla pelkistys- ja värjäysmenetelmiä kaupallisesti hankitulla luonnonindigolla (*Indigofera tinctoria*, Tetri Design). Esitesteissä ei kuitenkaan osattu arvioida tutkimuksen väriliemien vähäistä indigomäärää.

9 Pohdinta

Tutkituista morsinkolajikkeista lajike B eli Maa- ja elintarviketalouden tutkimuskeskuksen MTT:n (nyk. Luonnonvarakeskus) vuoden 2002 riviväli- ja siemenmääräkoikeesta peräisin oleva lajike tuotti suurimman kokonaisvärinmuutoksen ja tummimmat värjäysnäytteet. Lajikkeen B värjäysnäytteiden b^* -akselin arvot, eli näytteen sinisyys jäi kuitenkin verrokkejaan hieman pienemmäksi. Ero tosin oli pieni, eikä se ollut tilastollisesti merkitsevä. Morsingossa on indigon esiasteiden lisäksi myös muita väriaineita, muun muassa keltaisia flavonoideja (Harlt ym., 2015). Olisi mielenkiintoista tutkia tarkemmin näiden morsinkolajikkeiden sisältämiä väriaineita ja verrata niiden määriä. On mahdollista, että lajikkeessa B oli hieman muita enemmän keltaisia väriaineita, mikä vaikutti sen b^* -akselin arvoon. Vesipesussa kaikkien näytteiden b^* -arvot muuttuivat enemmän sinisiksi, joten oletettavasti keltaisia väriaineita peseytyi näytteistä pois vesipesussa. Lajikkeiden keskimääräisiä värimuutoksia vesipesun jälkeen vertailtaessa b^* -arvo muuttui vesipesun myötä eniten sinisen suuntaan lajikkeella B, ja myös yksittäisistä näytteistä eniten negatiivinen absoluuttinen b^* -arvo eli sinisin näyte saatiin lajikkeella B. Oletettavasti keltaista väriä oli siis lajikkeen B näytteissä ennen pesua eniten. Olisi myös hyödyllistä tutkia, saataisiinko eri morsinkolajikkeilla samansuuntaisia tuloksia aiemmin kasvukaudella kerätyistä lehdistä. Tämän tutkimuksen lehtimateriaali kerättiin aivan kasvukauden lopussa, jolloin indigon esiasteiden määrä on jo vähentynyt lehdissä. Tuloksista ei siten selviä, oliko lajikkeen B lehdissä alun perin enemmän indigon esiasteita kuin muissa lajikkeissa, vai vähenivätkö ne vain hieman muita lajikkeita hitaammin. Myös muiden

väriaineiden konsentraatio lehdissä voi vaihdella kasvukauden aikana. Tämän selvittäminen vaatisi tutkimuksen, jossa indigon ja muiden väriaineiden määrää ja värjäystuloksia verrattaisiin useamman kerran kasvukauden aikana.

Uuttomenetelmistä suurimmat kokonaisvärimuutokset ja tummimmat näytteet saatiin uutolla 3 eli uuttamalla pilkottuja lehtiä 80-asteisessa vedessä 30 minuuttia. Ero kokonaisuutettuihin lehtiin oli merkittävä. Sen sijaan b*-akselin arvo, eli näytteiden sinisyys, ei kuitenkaan lehtien pilkkomisen myötä juurikaan kasvanut. Tähänkin todennäköisesti vaikutti morsingossa olevat keltaiset väriaineet, sillä vesipesun jälkeen uuton 3 näytteet olivat eniten sinisiä. Todennäköisesti lehtien pilkkominen vapautti niistä enemmän keltaisia väriaineita, mutta ilman puretusta ne eivät kuitenkaan tarttuneet puuvillakuituihin pysyvästi, vaan peseytyivät vesipesussa pois. Myös morsingon eri väriaineiden konsentraatio eri tavoin uutetuissa väriliemissä olisi mielenkiintoinen tarkentavan jatkotutkimuksen aihe.

Pelkistysmenetelmistä suurin kokonaisvärimuutos ja tummimmat näytteet saatiin standardimenetelmällä, mutta erot eri pelkistimien välillä olivat pieniä. Sen sijaan b*-akselin arvot olivat natriumditioniitilla pelkistetyillä liemillä (standardi ja $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_4$) selvästi sokeita enemmän negatiivisia eli sinisempiä. Natriumditioniitti on tehokas pelkistäjä ja sen huomasi tässä värjäyskokeessa selvästi; natriumditioniitilla pelkistetyt liemet (standardi ja $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_4$) muuttuivat välittömästi kirkkaan keltaisiksi, kun taas sokereilla pelkistetyt (fruktoosi ja glukoosi) muuttivat väriä vähitellen pelkistysajan kuluessa, eikä väri koskaan muuttunut yhtä kirkkaan keltaiseksi kuin natriumditioniittia sisältävillä liemillä. Tärkeä huomio oli kuitenkin, että natriumditioniitin määrän lisääminen ei parantanut värjäystulosta, vaan päinvastoin liian suuri pelkistimien määrä johtaa huonompaan värjäystulokseen. Teollisessa värjäyksessä, missä indigon määrä on tarkkaan tiedossa, on sopivan natriumditioniitin määräkin helpompi määrittää. Kotivärjäjin on kuitenkin vaikeampi tietää, kuinka paljon indigoa tuoreista morsingonlehdistä saadaan ja mikä silloin on sopiva pelkistimen määrä. Erityisesti, kun indigon esiasteiden määrä vaihtelee myös morsingosatojen välillä. Olisikin mielenkiintoista tutkia, mikä on pienin mahdollinen natriumditioniitin määrä, jolla saadaan aikaiseksi hyvä värjäystulos, esimerkiksi kiloa tuoreita morsingonlehtiä kohden ensimmäisestä lehtisadosta, joka tyypillisesti Suomessa saadaan heinä-elokuun vaihteessa ja toisaalta toisesta lehtisadosta, joka saadaan tyypillisesti syyskuussa (Keskitalo & Vuorema, 2005).

Vaikka natriumditioniitilla värjäystulokset olivat sinisempiä, onnistui indigon pelkistys kuitenkin oikein hyvin myös sokereilla. Fruktoosia ja glukoosia ei tämän tutkimuksen perusteella voida laittaa paremmuusjärjestykseen, sillä niiden väliltä ei juurikaan löytynyt eroja. Fruktoosilla saatiin hieman suurempi kokonaisvärimuutos, mutta toisaalta glukoosilla pelkistetyt näytteet olivat hieman sinisempiä. Mitkään värjäystuloksista saaduista pienistä eroista ei myöskään ollut tilastollisesti merkitseviä. Värin vesipesun keston testeissä fruktoosi sai hieman glukoosia paremman tahriavuuden arvosanan diasetaatilla, mutta vaikka tämä ero oli tilastollisesti merkitsevä, oli se niin pieni, ettei sillä ole mitään käytännön merkitystä.

Koska sokerit eivät ole yhtä tehokkaita pelkistimiä kuin natriumditioniitti, ei ylipelkistymistä välttämättä tapahdu sokereilla yhtä pienillä pelkistinmäärillä kuin natriumditioniitilla. Meksi ym. (2012) kuitenkin osoittivat, että muun muassa glukoosilla ylipelkistymistä kyllä tapahtuu, kun sen määrä vain on riittävän suuri. Kyseisessä tutkimuksessa käytettiin synteettistä indigoa, jota oli testiliuoksissa 2 g/l. Glukoosilla värjäystulokset alkoivat heikentyä ylipelkistymisen vuoksi, kun glukoosin konsentraatio nousi yli 21,6 g/l. Värjäystulosten heikkeneminen ei kuitenkaan tapahtunut yhtä nopeasti kuin natriumditioniitilla, jolla värjäystulosten lasku ylipelkistymisen vuoksi oli melko jyrkkä. Tuoreilla morsingonlehdillä värjätessä ei indigon määrää kuitenkaan voi arvioida yhtä tarkasti kuin jauhemaista indigoa käyttäessä, joten Meksien ym. (2012) tutkimuksen tuloksia ei voi suoraan hyödyntää morsinkovärjäyksessä. Optimaalisen fruktoosin ja glukoosin määrän määrittely morsinkovärjäyksessä vaatisikin oman vastaavan tutkimuksensa.

Lähteet

Angelini, L. G., Tozzi, S. & Nasso, N. (2004). *Environmental factors affecting productivity, indican content, and indigo yield in Polygonum tinctorium Ait., a subtropical crop grown under temperate conditions*. Journal of agricultural and food chemistry, 52(25), p. 7541.

Angelini, L. G., Tozzi, S. & Nasso, N. (2007). *Differences in leaf yield and indigo precursors production in woad (Isatis tinctoria L.) and Chinese woad (Isatis indigotica Fort.) genotypes*. Field Crops Research, 101(3), pp. 285—295.

Arnkil, H. (2007) *Värit havaintojen maailmassa*. Helsinki: Taideteollinen korkeakoulu.

Anttila, P. (2005) *Ilmaisu, teos, tekeminen ja tutkiva toiminta*. Hamina: Akatiimi Oy.

Balfour-Paul, J. (2006). *Indigo*. Lontoo: Archtype Publications.

Blackburn, R. S., Bechtold, T. & John, P. (2009). *The development of indigo reduction methods and pre-reduced indigo products*. Coloration Technology, 125(4), pp. 193—207.

Bechtold, T. & Pham, T. (2019). *Textile chemistry*. Berlin: de Gruyter.

Božič, M. & Kokol, V. (2008). *Ecological alternatives to the reduction and oxidation processes in dyeing with vat and sulphur dyes*. Dyes and Pigments, 76(2), pp. 299—309.

Butts, K. (2015). *Measurement techniques in colorimetry: In the last decade, significant advances have been made in the development and production of color measurement systems*. (QUALITY 101). Quality, 54(2), p. 18.

Cardon, D. (2007) *Natural Dyes. Sources, Tradition, Technology and Science*. Lontoo: Archtype Publications.

Chigogora, K., Fleming, P. & Sharma, A. (2019). *Optimizing Proofing in a Digital Work Flow*. Proceedings of the 57th TAGA Annual Technical conference, Toronto, Ontario (2005).

Gilbert (nee Stoker), K. G., Hill, D. J., Crespo, C., Mas, A., Lewis, M., Rudolph, B. & Cooke, D. T. (2000). *Qualitative analysis of indigo precursors from woad by HPLC and HPLC-MS*. *Phytochemical Analysis*, 11(1), pp. 18—20.

Hannola-Teitto, M., Jokela, R., Leskelä, M., Näsäkkälä, E., Pohjakallio, M. & Rassi, M. (2006a). *Neon 3: Reaktiot ja energia*. Helsinki: Edita.

Hannola-Teitto, M., Jokela, R., Leskelä, M., Näsäkkälä, E., Pohjakallio, M. & Rassi, M. (2006b). *Neon 4: Metallit ja materiaalit*. Helsinki: Edita.

Hartl, A., Proaño Gaibor, A. N., van Bommel, M. R. & Hofmann-de Keijzer, R. (2015). *Searching for blue: Experiments with woad fermentation vats and an explanation of the colours through dye analysis*. *Journal of Archaeological Science: Reports*, 2, pp. 9—39.

Hirsjärvi, S., Remes, P. & Sajavaara, P. (1997) *Tutki ja kirjoita*. Helsinki: Kustannusosakeyhtiö Tammi.

Keskitalo, M. (26.10.2018) Luonnonvarakeskuksen erikoistutkija Marjo Keskitalolta sähköpostitse 26.10.2018 saatu tiedonanto.

Keskitalo, M. & Vuorema, A. (2001) *Värimorsingosta indigon-sinistä väriä*. *Koetoiminta ja käytäntö*, 4/2001.

Keskitalo, M. & Vuorema, A. (2005) *Sininen väri on morsingon*. *Koetoiminta ja käytäntö*, 3/2005.

Kokubun, T., Edmonds, J. & John, P. (1998). *Indoxyl derivatives in woad in relation to medieval indigo production*. *Phytochemistry*, 49(1), pp. 79—87.

Meksi, N., Ticha, M.B., Kechida, M. & Mhenni, M. F. (2012). *Using of ecofriendly α -hydroxycarbonyls as reducing agents to replace sodium dithionite in indigo dyeing processes*. *Journal of Cleaner Production*, 24, pp. 149—158.

Metsämuuronen, J. (2005) *Tutkimuksen tekemisen perusteet ihmistieteissä*. 3. laitos. Helsinki: International methelp.

Oberthür, C., Graf, H. & Hamburger, M. (2004a). *The content of indigo precursors in Isatis tinctoria leaves — a comparative study of selected accessions and post-harvest treatments*. *Phytochemistry*, 65(24), pp. 3261—3268.

Oberthür, C., Schneider, B., Graf, H. & Hamburger, M. (2004b). *The Elusive Indigo Precursors in Woad (Isatis tinctoria L.) – Identification of the Major Indigo Precursor, Isatan A, and a Structure Revision of Isatan B*. *Chemistry & Biodiversity*, 1(1), pp. 174—182.

Ranta, E., Rita, H. & Kouki, J. (1994) *Biometria. Tilastotiedettä ekologeille*. Helsinki: Yliopistopaino.

Rihlana, S. (1992) *Värioppi*. Helsinki: Rakennustieto Oy.

Räisänen, R. (2014) *Kokeellinen tutkimus osana käsityötieteen tutkimuskenttää*. Teoksessa Karppinen, S., Kouhia, A. & Syrjäläinen, E. (toim) *Kättä pidempää. Otteita käsityön tutkimuksesta ja käsitteellistämisestä*. Helsinki: Helsingin yliopisto. s. 102—115.

Räisänen, R., Primetta, A. & Niinimäki, K. (2015) *Luonnonväriaineet*. Helsinki: Maahenki.

Saikhao, L., Setthayanond, J., Karpkird, T. & Suwanruji, P. (2017). *Comparison of sodium dithionite and glucose as a reducing agent for natural indigo dyeing on cotton fabrics*. *MATEC Web of Conferences*, 108.

Saikhao, L., Setthayanond, J., Suwanruji, P., Karpkird, T. & Bechtold, T. (2018). *Green reducing agents for indigo dyeing on cotton fabrics*. *Journal of cleaner production*, 197, pp. 106—113.

SFS-ISO 105-A04: Testikankaiden tahriutumisen määrittäminen värinmittauslaitteella. Helsinki: Suomen standardoimisliitto SFS.

SFS-EN-ISO 105-A05: Instrumental assessment of change in colour for determination of grey scale rating. Helsinki: Suomen standardoimisliitto SFS.

SFS-EN-ISO 105-C06: Värien pesunkesto koti- ja pesulapesussa. Helsinki: Suomen standardoimisliitto SFS.

SFS-EN-ISO 105-X12: Colour fastness to rubbing. Helsinki: Suomen standardoimisliitto SFS.

Shin, Y., Choi, M. & Yoo, D. (2014). *Eco-friendly indigo reduction using bokbunja (Rubus coreanus Miq.) sludge*. Fashion and Textiles, 1(1), pp. 1—8.

Siitonen, J. (2010) *Uutto-olosuhteiden vaikutus kasvipöeräisen indigon saantoon*. Lappeenranta: Lappeenrannan teknillinen yliopisto.

Stoker, K. G., Cooke, D. T. & Hill, D. J. (1998). *An Improved Method for the Large-Scale Processing of Woad (Isatis tinctoria) for Possible Commercial Production of Woad Indigo*. Journal of Agricultural Engineering Research, 71(4), pp. 315—320.

Vuorema, A. (2008) *Reduction and analysis methods of indigo*. Turku: Turun yliopisto.

Vuorema, A., John, P., Keskitalo, M., Kulandainathan, M. A. & Marken, F. (2008). *Electrochemical and sonoelectrochemical monitoring of indigo reduction by glucose*. Dyes and Pigments, 76(2), pp. 542—549

Xin, J. H., Chong, C. L. & Tu, T. (2000). *Colour variation in the dyeing of denim yarn with indigo*. Coloration Technology, 116(9), pp. 260—265.

Liitteet

Liite 1: Pelkistuksen ja värjäyksen olosuhteet

Pvm	uutos	glukoosi (g)	fruktoosi (g)	Na ₂ S ₂ O ₄ (g)	NaOH (g)	pH	Pelkistys		Värjäys		Hapetus
							lämp. (°C)	aika (min)	lämp.(°C)	aika (min)	aika (min)
28.3.2019	1A			1,6	1,6	12,41	50	10	50	10	10
22.3.2019	1A			4	4,8	12,13	70	10	50	10	10
22.3.2019	1A		4		4,8	12,03	70	10	50	10	10
22.3.2019	1A	4			4,8	12,08	70	10	50	10	10
28.3.2019	1B			1,6	1,6	12,51	50	10	50	10	10
22.3.2019	1B			4	4,8	12,06	70	10	50	10	10
22.3.2019	1B		4		4,8	11,93	70	10	50	10	10
22.3.2019	1B	4			4,8	11,93	70	10	50	10	10
28.3.2019	1C			1,6	1,6	12,47	50	10	50	10	10
22.3.2019	1C			4	4,8	12,12	70	10	50	10	10
22.3.2019	1C		4		4,8	12,01	70	10	50	10	10
22.3.2019	1C	4			4,8	12,01	70	10	50	10	10
28.3.2019	2A			1,6	1,6	12,26	50	10	50	10	10
22.3.2019	2A			4	4,8	12,12	70	10	50	10	10
22.3.2019	2A		4		4,8	12,07	70	10	50	10	10
22.3.2019	2A	4			4,8	12,09	70	10	50	10	10
28.3.2019	2B			1,6	1,6	12,19	50	10	50	10	10
22.3.2019	2B			4	4,8	12,04	70	10	50	10	10
22.3.2019	2B		4		4,8	11,95	70	10	50	10	10
22.3.2019	2B	4			4,8	11,96	70	10	50	10	10
28.3.2019	3A			1,6	1,6	12,19	50	10	50	10	10
22.3.2019	3A			4	4,8	12,03	70	10	50	10	10
22.3.2019	3A		4		4,8	11,97	70	10	50	10	10
22.3.2019	3A	4			4,8	11,9	70	10	50	10	10
28.3.2019	3B			1,6	1,6	12,3	50	10	50	10	10
22.3.2019	3B			4	4,8	12,08	70	10	50	10	10
22.3.2019	3B		4		4,8	11,99	70	10	50	10	10
22.3.2019	3B	4			4,8	11,91	70	10	50	10	10

Liite 2: Näytteiden CIELAB-arvot verrattuna standardimenetelmällä pelkistettyihin näytteisiin eri uutoilla ja lajikkeilla.

Uutto	Lajike	Pelkistin	L*	a*	b*	dL*	da*	db*	dE*
1	A	Standardi	82,06	-1,09	-7,97	-----	-----	-----	-----
		Na ₂ S ₂ O ₄	83,05	0,22	-6,97	0,99	1,31	1,01	1,93
		Fruktoosi	81,45	0,93	-6,92	-0,62	2,02	1,05	2,36
		Glukoosi	84,46	0,79	-7,03	2,40	1,88	0,95	3,19
	B	Standardi	80,99	-1,10	-7,19	-----	-----	-----	-----
		Na ₂ S ₂ O ₄	81,95	-1,01	-4,92	0,96	0,09	2,27	2,47
		Fruktoosi	80,50	0,07	-4,12	-0,49	1,17	3,07	3,32
		Glukoosi	81,77	-0,19	-3,90	0,77	0,91	3,29	3,50
	C	Standardi	79,08	-0,86	-7,81	-----	-----	-----	-----
		Na ₂ S ₂ O ₄	82,91	-1,28	-7,98	3,83	-0,42	-0,16	3,86
		Fruktoosi	86,59	-0,52	-8,22	7,50	0,34	-0,41	7,52
		Glukoosi	83,49	-0,55	-7,75	4,41	0,30	0,06	4,42
2	A	Standardi	82,75	-1,44	-7,48	-----	-----	-----	-----
		Na ₂ S ₂ O ₄	82,16	-1,71	-5,64	-0,59	-0,27	1,83	1,95
		Fruktoosi	84,85	-0,18	-7,45	2,10	1,26	0,03	2,45
		Glukoosi	78,28	-0,33	-4,04	-4,47	1,11	3,44	5,75
	B	Standardi	77,56	-1,93	-9,25	-----	-----	-----	-----
		Na ₂ S ₂ O ₄	82,38	-1,93	-6,00	4,82	0,00	3,25	5,81
		Fruktoosi	82,84	-0,61	-6,03	5,28	1,32	3,22	6,32
		Glukoosi	80,18	-1,79	-4,71	2,63	0,14	4,54	5,25
3	A	Standardi	74,00	-2,33	-6,98	-----	-----	-----	-----
		Na ₂ S ₂ O ₄	77,76	-2,32	-7,10	3,76	0,01	-0,13	3,76
		Fruktoosi	78,64	-0,09	-3,96	4,64	2,24	3,01	5,97
		Glukoosi	78,33	-0,57	-3,78	4,32	1,76	3,19	5,66
	B	Standardi	70,10	-3,92	-8,96	-----	-----	-----	-----
		Na ₂ S ₂ O ₄	71,52	-3,55	-7,49	1,41	0,38	1,47	2,07
		Fruktoosi	74,75	-1,11	-3,41	4,65	2,82	5,55	7,77
		Glukoosi	76,51	-1,64	-4,32	6,41	2,29	4,64	8,24

Liite 3: Värin vesipesun keston harmaa-asteikon arvot.

Uutto	Lajike	Pelkistin	Haalistu- minen	Tahriminen					
				diasetaatti	puuvilla	poly- amidi	polyes- teri	polyak- ryyli	villa
1	A	Standardi	1	5	5	4-5	5	5	5
		Na ₂ S ₂ O ₄	1	5	5	5	5	5	5
		Fruktoosi	2,5	5	5	5	5	5	5
		Glukoosi	2	4-5	5	5	5	5	5
	B	Standardi	1	4-5	5	5	5	5	5
		Na ₂ S ₂ O ₄	1	4-5	5	5	5	5	5
		Fruktoosi	1,5	5	5	5	5	5	5
		Glukoosi	1	5	5	5	5	5	5
	C	Standardi	1	4-5	5	4-5	5	5	5
		Na ₂ S ₂ O ₄	1	4-5	5	4-5	5	5	5
		Fruktoosi	1	5	5	4-5	5	5	5
		Glukoosi	1	5	5	4-5	5	5	5
2	A	Standardi	1	5	5	5	5	5	5
		Na ₂ S ₂ O ₄	1	4-5	5	5	5	5	5
		Fruktoosi	1	5	5	5	5	5	5
		Glukoosi	1	4-5	4-5	5	5	5	5
	B	Standardi	1	4-5	5	5	5	5	5
		Na ₂ S ₂ O ₄	1	4-5	5	5	5	5	5
		Fruktoosi	1	5	5	5	5	5	5
		Glukoosi	1	5	5	5	5	5	5
3	A	Standardi	2	5	5	4-5	5	5	5
		Na ₂ S ₂ O ₄	2	4-5	5	4-5	5	5	5
		Fruktoosi	1	5	5	4-5	5	5	5
		Glukoosi	1	5	5	5	5	5	5
	B	Standardi	1,5	4-5	5	5	5	5	5
		Na ₂ S ₂ O ₄	1,5	5	5	5	5	5	5
		Fruktoosi	1	5	5	5	5	5	5
		Glukoosi	1	4-5	5	5	5	5	5

Liite 4: Väriin hankauksenkeston harmaa-asteikon arvosanat märkä- ja kuivahankauksessa.

Uutto	Lajike	Pelkistin	Harmaa - harmaa-asteikon arvosana			
			Märkähankaus		Kuivahankaus	
			Loimi	Kude	Loimi	Kude
uutto 1	lajike A	Standardi	5	5	5	5
		Na ₂ S ₂ O ₄	5	5	5	5
		Fruktoosi	5	5	5	5
		Glukoosi	5	5	5	5
	lajike B	Standardi	5	5	5	5
		Na ₂ S ₂ O ₄	5	5	5	5
		Fruktoosi	5	5	5	5
		Glukoosi	5	5	5	5
	lajike C	Standardi	5	5	5	5
		Na ₂ S ₂ O ₄	5	5	5	5
		Fruktoosi	5	5	5	5
		Glukoosi	5	5	5	5
uutto 2	lajike A	Standardi	5	5	5	5
		Na ₂ S ₂ O ₄	5	5	5	5
		Fruktoosi	5	5	5	5
		Glukoosi	5	5	5	5
	lajike B	Standardi	4-5	4-5	5	5
		Na ₂ S ₂ O ₄	5	5	5	5
		Fruktoosi	5	5	5	5
		Glukoosi	5	5	5	5
uutto 3	lajike A	Standardi	5	4-5	5	5
		Na ₂ S ₂ O ₄	5	5	5	5
		Fruktoosi	5	5	5	5
		Glukoosi	5	5	5	5
	lajike B	Standardi	4-5	4-5	5	5
		Na ₂ S ₂ O ₄	4-5	4-5	5	5
		Fruktoosi	4-5	4-5	5	5
		Glukoosi	4-5	5	5	5

Liite 5: Näytteiden L^{*}-, a^{*}- ja b^{*} arvot vesipesun jälkeen sekä niiden muutos verrattuna värjättyyn pesemättömään näytteeseen.

Uutto	Lajike	Pelkistin	L [*]	a [*]	b [*]	dL [*]	da [*]	db [*]
Uutto 1	Lajike A	Standardi	88,63	1,75	-8,95	3,68	3,34	-0,8
		Na2S2O4	89,91	2,29	-11,16	4,96	2,67	-4,56
		Fruktoosi	89,12	2,61	-10,52	3,22	2,31	-3,69
		Glukoosi	89,66	2,77	-10,59	6,58	2,42	-4,56
	Lajike B	Standardi	86,69	1,26	-8,91	6,2	2,49	-1,45
		Na2S2O4	87,7	1,38	-9,77	8,34	2,43	-6,07
		Fruktoosi	87,96	1,59	-9,11	6,88	1,44	-4,89
		Glukoosi	86,91	1,82	-8,99	8,85	1,89	-5,86
	Lajike C	Standardi	87,16	1,84	-10,27	8,58	2,79	-2,64
		Na2S2O4	88,44	2,03	-10,54	8,75	3,98	-3,99
		Fruktoosi	88,81	2,35	-8,9	5,14	2,79	-1,2
		Glukoosi	89,44	2,42	-10,06	7,45	3,58	-3,22
Uutto 2	Lajike A	Standardi	88,19	1,66	-11,13	5,99	2,97	-2,94
		Na2S2O4	87,45	1,77	-11,16	5,03	3,57	-4,86
		Fruktoosi	90,21	2,41	-10,46	6,76	2,99	-2,85
		Glukoosi	89,89	2,12	-9,73	7,58	2,68	-4,1
	Lajike B	Standardi	86,31	0,56	-11,63	7,31	2,68	-2,46
		Na2S2O4	88,1	1,41	-11,97	7,46	3,25	-5,41
		Fruktoosi	88,05	1,8	-10,95	8,3	2,48	-5,34
		Glukoosi	87,25	1,43	-10,7	8,93	2,86	-5,55
Uutto 3	Lajike A	Standardi	81,08	-0,22	-12,91	4,61	1,78	-4,51
		Na2S2O4	83,86	-0,08	-11,97	5,96	2,56	-3,91
		Fruktoosi	85,75	1,52	-8,9	7,35	1,84	-5,27
		Glukoosi	85,58	1,93	-9,53	6,47	2,24	-4,56
	Lajike B	Standardi	75,28	-1,56	-15,26	8,13	2,06	-7,37
		Na2S2O4	78,56	-1,38	-13,68	8,57	1,68	-5,85
		Fruktoosi	82,04	0,42	-10,03	9,68	1,48	-6,2
		Glukoosi	81,48	0,24	-10,51	8,31	1,58	-5,79

Liite 6: HSY:n raportti veden laadusta värjäyskokeiden värin vesipesun keston testien ajankohdalta.



HSY
Vedenpuhdistus
Käyttölaboratorio



Keskimääräinen veden laatu Pitkäkosken ja Vanhankaupungin
vedenpuhdistuslaitoksilla 1.1. - 31.3.2019

Analyysi	Yksikkö	Menetelmä	Puhdistettu vesi		Laatutavoite/ vaatimus ^{e)} enimmäisarvo
			Pitkäkoski	Vanha- kaupunki	
Lämpötila	°C	Sis. menetelmä	3,4	3,2	
Alkaliteetti	* mmol/l	SFS-EN ISO 9963-1:1996	0,73	0,72	
Ammoniumtyppi, NH ₄ -N	* mg/l	ISO 7150-1:1984, muunn.	0,08	0,08	0,5
Kokonaiskloori	mg/l	Sis. menetelmä	0,44	0,43	
Kokonaiskovuus	* °dH	SFS 3003:1987	2,9	3,0	
Org. kokonaishiili, TOC	* mg/l	SFS-EN 1484:1997	1,9	1,9	b)
Permanganaattiluku	* mg/l	SFS 3036:1981	3,5	3,8	
pH	*	SFS 3021:1979	8,3	8,4	6,5–9,5
Sameus	* FTU	SFS-EN ISO 7027:2016	0,06	0,06	a)
Sähköjohtavuus	* µS/cm	SFS-EN 27888:1994	148	149	2500
Kloridi	* # mg/l	Sis. menetelmä DA	4,7	4,8	250
Sulfaattirikki	* # mg/l	Sis. menetelmä DA	8,1	8,3	
Fluoridi	* # mg/l	Sis. menetelmä DA	0,1	<0,1	1,5
Kalsium, Ca	* # mg/l	SFS-EN ISO 11885:2009	19	20	
Magnesium, Mg	* # mg/l	SFS-EN ISO 11885:2009	1,6	1,8	
Natrium, Na	* # mg/l	SFS-EN ISO 11885:2009	5,8	5,9	200
Kalium, K	* # mg/l	SFS-EN ISO 11885:2009	1,3	1,3	
Rauta, Fe	* # µg/l	SFS 3028:1976	35	<20	200
Mangaani, Mn	* # µg/l	SFS-EN ISO 11885:2009	<3	<3	50
Alumiini, Al	* # µg/l	SFS-EN ISO 17294-2:2016	4	<3	200
Kadmium, Cd	* # µg/l	SFS-EN ISO 17294-2:2016	<0,02	<0,02	5,0
Kromi, Cr	* # µg/l	SFS-EN ISO 17294-2:2016	<0,05	<0,05	50
Kupari, Cu	* # µg/l	SFS-EN ISO 17294-2:2016	0,0	0,0	2000
Lyijy, Pb	* # µg/l	SFS-EN ISO 17294-2:2016	<0,1	<0,1	10
Sinkki, Zn	* # µg/l	SFS-EN ISO 11885:2009	<5	<5	
Heterotrofinen pes.luku 22°C	* pmy/ml	SFS-EN ISO 6222:1999	<1	<1	
<i>Escherichia coli</i>	* mpn/100 ml	SFS-EN ISO 9308-2:2014	<1	<1	0
Kolimuotoiset bakteerit	* mpn/100 ml	SFS-EN ISO 9308-2:2014	<1	<1	0
Haju, laim.luku 25°C		Sis. menetelmä	0,4	0,0	a)
Maku, laim.luku		Sis. menetelmä	0,3	0,1	a)

* Näyte tutkittu akkreditoitulla menetelmällä, mittausepävarmuudet saa pyydettyäessä

Analyysi teetetty alihankintana MetropoliLab-laboratoriossa.

Se on FINAS-akkreditointipalvelun akkreditoima testauslaboratorio T058, akkreditointivaatimus on standardi SFS-EN ISO/IEC 17025.

a) Käyttäjien hyväksyttävissä eikä epätavallisia muutoksia

b) Ei epätavallisia muutoksia

c) Sosiaali- ja terveysministeriön asetus talousveden laatuvaatimuksista ja valvontatutkimuksista 1352/2015 sekä muutos 683/2017