

LIETUVOS SVEIKATOS MOKSLŲ UNIVERSITETAS  
FARMACIJOS FAKULTETAS  
FARMAKOLOGIJOS KATEDRA

**JOANA FOKAITĖ**

**PAPRASTŲJŲ TRŪKAŽOLIŲ (*CICHORIUM INTYBUS L.*)  
ŽALIAVŲ FENOLINIŲ JUNGINIŲ IR ANTIOKSIDANTINIO  
AKTYVUMO TYRIMAS**

**Magistro baigiamasis darbas**

**Darbo vadovas**  
Doc. dr. Lina Raudonė

Kaunas, 2017

LIETUVOS SVEIKATOS MOKSLŲ UNIVERSITETAS  
FARMACIJOS FAKULTETAS  
FARMAKOGNOZIJOS KATEDRA

**TVIRTINU:**

Farmacijos fakulteto dekanas prof. dr. Vitalis Briedis

Data

**PAPRASTŲJŲ TRŪKAŽOLIŲ (*CICHORIUM INTYBUS L.*)  
ŽALIAVŲ FENOLINIŲ JUNGINIŲ IR ANTIOKSIDANTINIO  
AKTYVUMO TYRIMAS**

**Magistro baigiamasis darbas**

**Darbo vadovas**

Doc. dr. Lina Raudonė

Data

Recenzentas

Data

**Darbą atliko**

Magistrantė Joana Fokaitė

Data

Kaunas, 2017

## TURINYS

SANTRAUKA .....	5
SUMMARY .....	6
SANTRUMPOS .....	7
ĮVADAS.....	8
DARBO TIKSLAS IR UŽDAVINIAI.....	9
1. LITERATŪROS APŽVALGA.....	10
1.1. Paprastųjų trūkažolių ( <i>Cichorium intybus</i> L.) apibūdinimas.....	10
1.2. Paprastųjų trūkažolių ( <i>Cichorium intybus</i> L.) morfologiniai požymiai , paplitimas ir auginimas .....	10
1.3. Paprastųjų trūkažolių ( <i>Cichorium intybus</i> L.) vaistinė augalinė žaliava, cheminė sudėtis .....	11
1.4. Paprastųjų trūkažolių ( <i>Cichorium intybus</i> L.) žaliavų preparatų biologinis poveikis .....	12
1.5. Fenolinių junginių klasifikacija ir struktūros ypatumai.....	14
1.6. Laisvieji radikalai, oksidacinis stresas ir endogeninės antioksidantinės sistemos .....	17
1.7. Antioksidantinio aktyvumo nustatymo metodai .....	19
2. TYRIMO METODIKA.....	24
2.1. Tyrimo objektas ir metodai .....	24
2.1.1. Hidroksicinamono rūgšties darinių kiekio nustatymas spektrofotometriniu metodu.....	26
2.1.2. Bendro flavonoidų kiekio nustatymas spektrofotometriniu metodu .....	27
2.1.3. Antiradikalinio aktyvumo įvertinimas ABTS metodu .....	27
2.1.4. Redukcinio aktyvumo įvertinimas FRAP metodu .....	28
2.1.5. Efektyvioji skysčių chromatografija .....	29
2.2. Duomenų apdorojimas ir statistinis vertinimas.....	30
3. REZULTATAI IR JŲ APTARIMAS .....	31
3.1. Hidroksicinamono rūgšties darinių ekstrakcijos sąlygų paprastųjų trūkažolių žaliavoms parinkimas .....	31
3.2. Suminio hidroksicinamono rūgšties darinių kiekio įvairavimas paprastųjų trūkažolių žaliavose .....	32

3.3. Suminio flavonoidų kiekio įvairavimas paprastųjų trūkažolių žaliavose.....	34
3.4. Antiradikalinio aktyvumo nustatymas ABTS metodu paprastųjų trūkažolių žaliavose .....	37
3.5. Redukcinio aktyvumo nustatymas FRAP metodu paprastųjų trūkažolių žaliavose.....	41
3.6. Paprastųjų trūkažolių žaliavų analizė ESC metodu.....	44
3.7. Koreliacinių ryšių įvertinimas .....	51
4. IŠVADOS .....	53
5. PRAKTINĖS REKOMENDACIJOS .....	54
6. LITERATŪROS SĄRAŠAS .....	55
7. KONFERENCIJŲ TEZĖS .....	61

## SANTRAUKA

J. Fokaitės magistro baigiamasis darbas/ mokslinė vadovė doc. dr. L. Raudonė; Lietuvos sveikatos mokslų universiteto, Farmacijos fakulteto, Farmakognozijos katedra – Kaunas.

**Raktiniai žodžiai:** trūkažolė, fenoliniai junginiai, hidroksicinamono rūgštys, flavonoidai, spektrofotometrija, ESC, antioksidantinis aktyvumas.

**Pavadinimas.** Paprastųjų trūkažolių (*Cichorium intybus* L.) žaliavų fenolinių junginių ir antioksidantinio aktyvumo tyrimas.

**Tyrimo tikslas.** Nustatyti paprastųjų trūkažolių fenolinių junginių kiekį žolėje ir šaknyse, iširti ekstraktų antioksidantinį aktyvumą bei nustatyti optimalų žaliavos rinkimo laiką.

**Darbo uždaviniai.** Nustatyti paprastųjų trūkažolių žolės hidroksicinamono rūgščių ir flavonoidų kiekį vegetacijos eigoje bei skirtingose augavietėse. Nustatyti paprastųjų trūkažolių šaknų fenolinių junginių ir flavonoidų kiekį vegetacijos eigoje. Nustatyti paprastųjų trūkažolių žolės ir šaknų antiradikalinį ir redukcinį aktyvumą. Nustatyti paprastųjų trūkažolių žolės ir šaknų fenolinių junginių komplekso kokybinę ir kiekinę sudėtį efektyviosios skysčių chromatografijos metodu.

**Tyrimo objektas.** Natūraliai augančių paprastųjų trūkažolių žolė ir šaknys, surinkti 2016 metais.

**Tyrimo metodai.** Suminis hidroksicinamono rūgšties darinių ir flavonoidų kiekis paprastųjų trūkažolių žolės ir šaknų ekstraktuose nustatytas spektrofotometriniu metodu. Antioksidantinis aktyvumas nustatytas ABTS ir FRAP spektrofotometriniais metodais. Fenolinių junginių kiekybinis ir kokybinis įvertinimas atliktas ESC.

**Rezultatai ir išvados.** Hidroksicinamono rūgšties darinių kiekis vegetacijos laikotarpiu paprastųjų trūkažolių žolėje svyruoja nuo  $2,32 \pm 0,02$  mg/g iki  $3,65 \pm 0,01$  mg/g, o rinkimo vietose nuo  $1,88 \pm 0,05$  mg/g iki  $3,83 \pm 0,03$  mg/g. Suminis flavonoidų kiekis vegetacijos laikotarpiu žolėje svyruoja nuo  $24,63 \pm 0,05$  mg/g iki  $37,30 \pm 0,38$  mg/g, skirtinguose regionuose įvairuoja nuo  $16,85 \pm 0,27$  mg/g iki  $26,68 \pm 0,43$  mg/g. Vidutinis šaknų hidroksicinamatų kiekis yra  $0,73$  mg/g, o flavonoidų –  $1,41$  mg/g. Antiradikalinis aktyvumas žolės ekstraktuose vegetacijos metu svyruoja nuo  $134,55 \pm 1,22$   $\mu$ mol/g iki  $243,05 \pm 2,04$   $\mu$ mol/g, o skirtingose rinkimo vietose įvairuoja nuo  $99,55 \pm 1,63$   $\mu$ mol/g iki  $243,05 \pm 2,04$   $\mu$ mol/g. Redukcinis aktyvumas žolėje įvairuoja nuo  $198,85 \pm 1,83$   $\mu$ mol/g iki  $301,35 \pm 2,65$ , skirtingose augimo vietose nuo  $181,10 \pm 2,45$   $\mu$ mol/g iki  $438,35 \pm 5,10$   $\mu$ mol/g. Šaknų vidutinis antiradikalinis aktyvumas  $163,43$   $\mu$ mol/g, redukcinis –  $20,98$   $\mu$ mol/g. ESC metodu paprastųjų trūkažolių žaliavose identifikuoti šie junginiai: hidroksicinamono rūgšties dariniai (kavos, kaftaro, cikoro, chlorogeno rūgštis), flavonoidai (astragalinas, izoramnetino-3-rutinozidas, luteolino-4-glikozidas).

## SUMMARY

J.Fokaitė final master's thesis/ research supervisor assoc. prof. dr. L. Raudonė; Lithuanian University of Health Sciences, Academy of Medicine, Faculty of Pharmacy, Department of Pharmacognosy – Kaunas.

**Keywords:** chicory, phenolic compounds, hydroxycinnamic acid, flavonoids, spectrophotometry, antioxidant activity, ESC.

**Title.** The phenolic compounds and antioxidant activity research of *Cichorium intybus* L.

**The aim of the research.** To determine the amounts of phenolic compounds in the extracts of common chicory herb and roots, to analyse the antioxidant activity of extracts and to determine the optimal raw material harvesting time.

**Tasks of the research.** To evaluate the total amount of hydroxycinnamic acids and flavonoids during vegetation period and in different growing areas of common chicory herb. To evaluate the total amount of phenolic compounds and flavonoids during vegetation period of common chicory roots. To evaluate antioxidant activity (antiradical and reducing) of common chicory herb and roots. To determine qualitative and quantitative composition of individual phenolic compounds during vegetation period and in different growing areas of common chicory herb and roots.

**Research object.** Roots and herb of naturally growing common chicory, harvested in 2016.

**Research methods.** The total amount of hydroxycinnamic acids and flavonoids of common chicory extracts is determined by applying a spectrophotometric method of analysis. Antioxidant activity is determined by applying spectrophotometric methods with ABTS and FRAP. Qualitative and quantitative evaluation of phenolic compounds is determined by applying a high performance liquid chromatography analysis method.

**The results and conclusions.** The total amount of hydroxycinnamic acids during vegetation period in herb of chicory ranges from  $2,32 \pm 0,02$  mg/g to  $3,65 \pm 0,01$  mg/g and in different growing areas from  $1,88 \pm 0,05$  mg/g to  $3,83 \pm 0,03$  mg/g. The total amount of flavonoids during vegetation period in herb varies from  $24,63 \pm 0,05$  mg/g to  $37,30 \pm 0,38$  mg/g and in different growing areas from  $16,85 \pm 0,27$  mg/g to  $26,68 \pm 0,43$  mg/g. The average amount of hydroxycinnamic acids in roots is 0,73 mg/g, flavonoids – 1,41 mg/g. Antiradical activity of herb ranges from  $134,55 \pm 1,22$   $\mu$ mol/g to  $243,05 \pm 2,04$   $\mu$ mol/g in different vegetation periods, in different growing areas varies from  $99,55 \pm 1,63$   $\mu$ mol/g to  $243,05 \pm 2,04$   $\mu$ mol/g. Herb's reducing activity during vegetation period varies from  $198,85 \pm 1,83$   $\mu$ mol/g to  $301,35 \pm 2,65$ , in different growing areas from  $181,10 \pm 2,45$   $\mu$ mol/g to  $438,35 \pm 5,10$   $\mu$ mol/g. The average antiradical activity of roots is 163,43  $\mu$ mol/g, reducing activity – 20,98  $\mu$ mol/g. Identified phenolic compounds in herb and roots are: hydroxycinnamic acids (caffeic, caftaric, cichoric, chlorogenic acid), flavonoids (astragalgin, sorhamnetin-3-rutinoside, luteolin-4-glucoside).

## SANTRUMPOS

ABTS – 2,2'-azino-bis-(3-etilbenzotiazolin-6-sulfono rūgštis)

ANOVA – vienfaktorinė dispersinė analizė (angl. *analysis of variance*)

COX – ciklooksigenazė (angl. *cyclooxygenase*)

CUPRAC – vario redukcijos antioksidantinė galia (angl. *cupric ion reducing antioxidant capacity*)

DPPH – 2,2 – difenil-1-pikrilhidrazilas

DPPH<sup>•</sup><sub>REM</sub> – likusi DPPH koncentracija (angl. *remaining of DPPH*)

EP – elektronų perdavimo reakcija

ESC – efektyvioji skysčių chromatografija

FRAP – geležies redukcijos antioksidantinė galia (angl. *ferric reducing antioxidant power*)

n – imties dydis

ORAC – deguonies radikalų absorbcijos galia (angl. *oxygen radical absorbance capacity*)

p – reikšmingumo lygmuo

R<sup>2</sup> – determinacijos koeficientas

RNS – reaktyviosios azoto formos (angl. *reactive nitrogen species*)

ROS – reaktyviosios deguonies formos (angl. *reactive oxygen species*)

Rs – Spirmeno koreliacijos koeficientas

TEAC – trolokso ekvivalento antioksidacinė geba (angl. *Trolox-equivalent antioxidant capacity*)

TRAP – bendras radikalų gaudyklės parametro nustatymo metodas (angl. *total radical-trapping antioxidant parameter*)

UV – ultravioletinė spinduliuotė

VAP – vandenilio atomo perdavimo reakcija

WGS – globalinė geocentrinė koordinačių sistema (angl. *World Geodetic System*)

## IVADAS

Paprastoji trūkažolė (*Cichorium intybus* L.) – daugiametis astrinių šeimos vaistinis augalas. Tradicinėje medicinoje paprastųjų trūkažolių žaliava naudojama kaip vaistas nuo karščiavimo, viduriavimo, blužnies ir kepenų ligų, podagros ir reumatizmo [1]. Dauguma šių poveikių paremti tik tradiciniu ilgamečiu naudojimu, todėl vis daugiau atliekama tyrimų, skirtų išsiaiškinti paprastųjų trūkažolių biologinį poveikį ir veikimo mechanizmą [2]. Farmakologinį paprastųjų trūkažolių aktyvumą lemia biologiškai aktyvūs junginiai, kurių pagrindiniai – hidrosicinamono rūgštys bei flavonoidai. Fenoliniai junginiai, be kitų biologinių poveikių, kartu su vitaminu C ir E pasižymi stipriausiu antioksidantiniu veikimu [3].

Antioksidantinis paprastųjų trūkažolių aktyvumas priklauso nuo fenolinių junginių komplekso, nuo augalo augimo sąlygų (klimato, dirvos, augimo vietos) ir kitų veiksnių, tokių kaip augalo vegetacijos eiga. Todėl labai svarbu nustatyti tinkamas augalų rinkimo sąlygas pasiekti maksimaliam antioksidantiniam poveikiui [3]. Atlikta daug užsienio mokslininkų tyrimų, kuriuose nustatomos tinkamiausios augimo ir kultivavimo sąlygos, taip pat tinkamiausias vegetacijos periodas paprastųjų trūkažolių rinkimui [4,5]. Tačiau Lietuvoje nėra atlikta tyrimų, kurie leistų pasirinkti optimalų vegetacijos tarpsnį. Taip pat trūksta duomenų apie fenologinių tarpsnių itaką fenolinių junginių kaupimosi dėsningumams. Kokybiškos augalinės žaliavos poreikis kasmet vis didėja, todėl vis aktualesnis darosi racionalaus augalinių žaliavų panaudojimo klausimas. Augalinių žaliavų rinkimas, ypač iš natūralių augimo vietų, gali sukelti ekologines problemas – tokias kaip rūšies nykimą ar mažėjimą [6]. Būtina tausoti gamtinius resursus, todėl vaistinių ir prieskoninių augalų darnus rinkimas turi būti vykdomas optimaliu laiku [6], kuomet nustatomas maksimalus biologiškai aktyvių junginių kiekis. Fenolinių junginių įvairavimo tyrimas natūralios augavietėse svarbus vaistinės augalinės žaliavos kokybės vertinimui ir augalinių išteklių tyrimui.

Tyrimo tikslas – nustatyti paprastųjų trūkažolių fenolinių junginių kiekį žolėje ir šaknyse, iširti ekstraktų antioksidantinį aktyvumą bei nustatyti optimalų žaliavos rinkimo laiką.

Vaistinių augalinių žaliavų kokybę lemia jų sudėtyje esančių biologiškai aktyvių junginių rodikliai. Išanalizavus literatūros ir tyrimų duomenis pastebėta, kad paprastųjų trūkažolių žaliavoje esantys fenolinių junginių kaupimosi dėsningumai yra nepakankamai iširti, ypač trūksta duomenų apie Lietuvoje ruošiamą žaliavą, todėl būtų tikslinga atlikti žaliavos fitocheminę analizę, nustatant sudėties įvairavimą skirtinguose Lietuvos regionuose bei skirtingu vegetacijos laikotarpiu.



## DARBO TIKSLAS IR UŽDAVINIAI

**Darbo tikslas** – nustatyti paprastųjų trūkažolių fenolinių junginių kiekį žolėje ir šaknyse, ištirti ekstraktų antioksidantinį aktyvumą bei nustatyti optimalų žaliavos rinkimo laiką.

**Darbo uždaviniai:**

1. Nustatyti paprastųjų trūkažolių žolės hidroksicinamono rūgščių ir flavonoidų kiekį vegetacijos eigoje bei skirtingose augavietėse.
2. Nustatyti paprastųjų trūkažolių šaknų fenolinių junginių ir flavonoidų kiekį vegetacijos eigoje.
3. Nustatyti paprastųjų trūkažolių žolės ir šaknų antiradikalinį ir redukcinį aktyvumą.
4. Nustatyti paprastųjų trūkažolių žolės ir šaknų fenolinių junginių komplekso kokybinę ir kiekinę sudėtį efektyviosios skysčių chromatografijos metodu.

# 1. LITERATŪROS APŽVALGA

## 1.1. Paprastųjų trūkažolių (*Cichorium intybus* L.) apibūdinimas

Paprastoji trūkažolė (lot. *Cichorium intybus* L., angl. *Common chicory*) – tai daugiametis, žolinis, vaistinis augalas, kilęs iš Viduržemio jūros, vidurio Azijos ir šiaurės Afrikos regionų [7], šiuo metu plačiai kultivuojamas vidutinių platumų klimato zonoje [8]. Augalo pavadinimo kilmė aiškinama skirtingai, tačiau manoma, kad *Cichorium* kilęs iš graikų kalbos žodžio *kikhoreia*, reiškiančio lauką. *Intybus* kildinamas iš lotyniško žodžio *intubus*, apibūdinantį tuščiavidurį augalo stiebą, arba graikiško žodžio *ntomos* (liet. pomidoras), nurodantį, kad augalui būdingi lapai panašūs į pomidoro [8]. Paprastoji trūkažolė priklauso trūkažolių (*Cichorium* L.) genčiai, astrinių (*Asteraceae* Berch. & J.Presl.) šeimai [9].

### Sistematika:

**Karalystė:** Augalai (*Plantae*)

**Skyrius:** Magnolijūnai (*Magnoliophyta*)

**Klasė:** Magnolijainiai (*Magnoliopsida*)

**Poklasis:** Astražiedžiai (*Asteridae*)

**Eilė:** Astriečiai (*Asterales*)

**Šeima:** Astriniai (*Asteraceae*)

**Gentis:** Trūkažolių (*Cichorium*)

**Rūšis:** Paprastoji trūkažolė (*Cichorium intybus* L.) [10].

## 1.2. Paprastųjų trūkažolių (*Cichorium intybus* L.) morfologiniai požymiai, paplitimas ir auginimas

Paprastoji trūkažolė – 30 – 150 cm aukščio augalas, išauginantis stambią 1,5 – 2 cm storio, iki 50 cm ilgio, nuo vidurio dažnai šakotą šaknį [11,12]. Stiebas dažniausiai vienas, stačias, briaunotas, šakotas, apaugęs retokais šiurkščiais plaukeliais [12]. Pamatiniai lapai – plunksniškai suskaldyti, išsidėstę 15 – 51 cm skrotelėje, 7 – 40 cm ilgio ir 2 -13 cm pločio, apaugę ilgais daugialaščiais plaukeliais. Viršutiniai stiebinių lapai – lancetiški, dantyti, apimantys stiebą, į viršūnę mažėjantys, 3 – 33 cm ilgio ir 0,9 – 11 cm pločio, plaukuoti. Visi augalo lapai įvairios formos – nuo kiaušiniškų iki lancetiškių, apaugę šereliais [12–14]. Graižai 3 – 4 cm skersmens, plokšti, pavieniai arba išsidėstę po kelis stiebo ir šakų viršūnėse bei lapų pažastyse. Žiedsostis plokščias, viduryje žvynuotas. Žiedai

graiže tik liežuviški, melsvi (pasitaiko baltų ar rožinių) [11,14]. Vaisiai – lukštavaisiai su skristuku. Sėklos 2 – 3,5 mm ilgio, plikos, rudos spalvos, turi vainikėlį. Paprastoji trūkažolė žydi nuo liepos iki rugsėjo mėnesio [11,12].

Paprastosios trūkažolės auga pakelėse, dykvietėse, dirvonuose, pievose, prie sodybų, ypač gerai veši kalkingose dirvose. Randamos visoje Lietuvoje, ypač pietinėje šalies dalyje. Šie augalai priskiriami archeofitų grupei [11]. Paprastosios trūkažolės geriausiai veši vidutinių platumų klimato juostoje, tačiau nepaisant to, yra atsparios tiek kaitriam, tiek vėsiam klimatui. Palankiausia dirvožemio pH 5,0 – 8,2 [7]. Paprastųjų trūkažolių kultivavimui reikalingos tinkamos drėgmės ir temperatūros sąlygos. Jei paprastosios trūkažolės auginamos kaip žaliava šaknims, reikalingas drėgnas ir karštas klimatas. Sėklų auginimui palankesnis sausesnis klimatas. Nustatyta, kad optimali paprastųjų trūkažolių augimui reikalinga temperatūra yra 18 – 24 ° C [15].

### 1.3. Paprastųjų trūkažolių (*Cichorium intybus* L.) vaistinė augalinė žaliava, cheminė sudėtis

Paprastųjų trūkažolių dažniausiai naudojama vaistinė augalinė žaliava yra šaknys [8,11–13,16], kiek rečiau – žiedai, kurie renkami žydėjimo pradžioje [11,12]. Antžeminė augalo dalis naudojama retai, tačiau taip pat pasižymi augalui būdingomis antihepatotoksinėmis, antiuždegiminėmis ir kitomis savybėmis [16]. Prancūzijos farmakopėjoje (7 leidimas) ir Italijos farmakopėjoje (5 leidimas) yra aprašytas paprastųjų trūkažolių šaknų ir lapų mišinys. Vokietijos Komisijos E monografijoje aprašytos sudžiovintos antžeminės augalo dalys ir šaknys. Vokietijos homeopatijos farmakopėjoje kaip paprastųjų trūkažolių žaliava aprašytas visas žydintis augalas [8].

Paprastųjų trūkažolių skirtingų augalo dalių fitocheminė sudėtis skiriasi. **Žieduose kaupiamos biologiškai aktyvios medžiagos. Antocianinų dariniai:** cianidin-3-malonilgliukozidas, delfinidin-3,5-di-O-(6-O-malonil-beta-D-gliukozidas) arba delfinidin-3-O-(6-O-malonil-beta-D-gliukozido)-5-O-beta-D-gliukozidas, delfinidin-3-O-beta-D-gliukozido-5-O-(6-O-malonil-beta-D-gliukozidas), delfinidin-3,5-di-O-beta-D-gliukozidas. **Fenolinės rūgštys:** 3-O-p-kumaro chinono rūgštis.

**Stiebuose kaupiamos biologiškai aktyvios medžiagos. Kumarinai:** umbeliferonas (5-hidroksikumarinas), eskuletinas (6,7-dihidroksikumarinas) skopoletinas, ir cikorinas (eskuletin-7-O-beta-D-gliukozidas).

**Lapuose kaupiamos biologiškai aktyvios medžiagos. Fenolinės rūgštys:** kavos rūgštis, cikoro rūgštis. **Flavonoidai:** izoramnetinas, apigeninas, apigenin-7-O-L-arabinozinas, luteolin-7-O-

gliukuronidas, kvercetin-3-O-gliukuronidas, kemferol-3-O-gliukozidas, C-glikozilo flavonai. Taip pat lapuose kaupiami **seleno dariniai**.

**Šaknyse kaupiamos biologiškai aktyvios medžiagos. Seksviterpenai:** cikoriolidas A, cikoriozidai A, B ir C, laktucinas, 8-deoksilaktucinas, laktukopikrinas ir kiti. Šaknų sultyse kaupiamos biologiškai aktyvios medžiagos: **seksviterpeniniai laktonai:** laktucinas ir laktukopikrinas. **Fenolinės rūgštys:** chlorogeno rūgštis [8].

#### 1.4. Paprastųjų trūkažolių (*Cichorium intybus* L.) žaliavų preparatų biologinis poveikis

**Antimikrobinis poveikis.** Skirtingi paprastųjų trūkažolių ekstraktai pasireiškia skirtingu antimikrobinu poveikiu. Etilacetato ekstraktas pasižymi stipriausiu poveikiu, kai tuo tarpu vandeninis ekstraktas sulėtino tik *Agrobacterium radiobacter* sp. *tumefaciens*, *Erwinia carotovora*, *Pseudomonas fluorescens* ir *Pseudomonas aeruginosa* bakterijų kultūrų augimą. Šaknų ekstraktai pasižymėjo intensyvesniu antimikrobinu poveikiu, nei ekstraktai iš viso augalo [17,18], jie turėjo reikšmingą poveikį *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus*, *Salmonella typhi*, *Micrococcus luteus*, ir *Escherichia coli* bakterijoms. Nustatyta, kad vandeniniai ir organiniai sėklų ekstraktai yra aktyvūs prieš *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli*, ir *Candida albicans* bakterijų kultūras [17,19,20]. Paprastųjų trūkažolių antimikrobinis poveikis pasireiškia dėl sudėtyje esančių fenolinių junginių. Fenoliniai junginiai gali veikti bakterijų ląstelių sienes ir membranas, didindami jų pralaidumą ir leisdami intraląstelinėms medžiagoms išsiskirti iš bakterijos ląstelės ir taip mažindami jos veiksmingumą [21].

**Antihelmininis poveikis.** Kondensuoti taninai ir seksviterpeniniai laktonai, esantys paprastųjų trūkažolių sudėtyje pasižymi antihelminciniu veikimu. Tai pastebėta atlikus tyrimus su avimis – papildžius jų maisto racioną paprastųjų trūkažolių žole, pastebėta, kad ženkliai sumažėjo ketvirtajame avių skrandyje esančių suaugusių nematodų kiekis ir kiaušinėlių ekskrecija [17,22,23].

**Antimaliarinis aktyvumas.** Artimuosiuose rytuose tradiciškai šviežios paprastųjų trūkažolių šaknys buvo naudojamos kaip vaistas nuo maliarijos. Šaknyse esantys seksviterpeniniai laktonai - laktucinas ir laktukopikrinas – buvo efektyvūs prieš maliarijos sukėlėjus *in vitro* eksperimentuose [17,24].

**Antioksidantinis aktyvumas.** Dėl paprastųjų trūkažolių sudėtyje esančių fenolinių junginių augalas pasižymi antioksidantiniu aktyvumu. Tyrimai parodė, kad etanoliniai paprastųjų trūkažolių ekstraktai apsaugo nuo peroksidų formavimosi riebalų ląstelėse [25].

**Antihepatotoksinis aktyvumas.** Paprastosios trūkažolės pasižymi kepenų ląsteles apsaugančiu poveikiu. Skirtingų tyrimų metu nustatyta, kad vandeniniai ir alkoholiniai šaknų, lapų ir sėklų ekstraktai pasižymėjo antihepatotoksinio poveikiu anglies tetrachlorido sukeltam kepenų pažeidimui [26,27]. Nustatyta, kad sėklų metanolinis ekstraktas veikia antihepatotoksiškai ir jo veikimą galima prilyginti silimarino poveikiui [28].

**Antidiabetinis veikimas.** Muthusamy et al. (2008) nustatė, kad paprastosios trūkažolės dėl savo sudėtyje esančių taninų pasižymi antidiabetiniu poveikiu. Metanolinis paprastųjų trūkažolių sėklų ekstraktas žymiai padidino gliukozės įsisavinimą 3T3-L1 adipocituose, taip sumažindami gliukozės koncentraciją kraujyje, tačiau nesumažino adipogenezės. Tai svarbu gydant antro tipo (nuo insulino nepriklausomą) diabetą [29]. Atlikus klinikinius tyrimus su pacientais, sergančiais antro tipo cukriniu diabetu, nustatyta, kad gydymas metforminu yra efektyvesnis papildomai vartojant paprastųjų trūkažolių sėklų miltelius arba jų nuovirą, nei gydant vien metforminu [30].

Emam A. Abdel-Rahim et al. (2016) atliko tyrimą su žiurkėmis, kurioms streptozotocinu buvo sukeltas diabetas. Nustatyta, kad dietos papildymas paprastųjų trūkažolių lapų milteliais žymiai sumažino gliukozės kiekį kraujyje, cholesterolio, trigliceridų ir mažo tankio lipoproteinų rodmenis [31]. Atlikus *in vitro* tyrimą su metanoliniu lapų ekstraktu nustatyta, kad jis sumažina interleukino-1 $\beta$  sekreciją, slopindamas NLRP3 inflamamosos aktyvaciją, kuri tiesiogiai susijusi su antro tipo cukrinio diabeto patogenezė. Taip pagerinamas gliukozės metabolizmas ir sumažinamas metabolinis uždegimas [32].

**Gastroprotekcinis poveikis.** Nustatyta, kad paprastųjų trūkažolių lapų vandeninis ekstraktas pasižymi gastroprotekciniu, nuo skrandžio opų apsaugančiu poveikiu. Toks poveikis pasireiškia dėl antimikrobinio poveikio *Helicobacter pylori* bakterijų kultūroms [31].

**Priešuždegiminis poveikis.** Uždegiminiam procesui labai svarbi ciklooksigenazės (COX) fermentų sistema. Ciklooksigenazė dalyvauja prostaglandinų ir tromboksano sintezėje. Prostaglandinai labai svarbūs organizmo imuninės sistemos reguliavimui, reprodukcijai, inkstų vystymuisi ir kitiems procesams [33]. Vanisree Mulabagal et al. (2009) atlikto *in vitro* tyrimo metu nustatyta, kad paprastųjų trūkažolių lapų vandeninis ekstraktas pasižymėjo lipidų peroksidaciją ir COX-1 ir COX-2 fermentų sistemą inhibuojančiu poveikiu [34].

**Analgetinis ir raminantis poveikis.** Nustatyta, kad paprastųjų trūkažolių sudėtyje esantys seksviterpenai laktucinas, laktukopikrinas ir 11 $\beta$ ,13-dihidrolaktucinas pasižymi analgetiniu ir raminančiu poveikiu. 2006 metais Lenkijos mokslininkų atlikto tyrimo su pelėmis metu nustatyta, kad seksviterpenų aktyvumas (kai dozė 15 ir 30 mg/kg) prilyginamas ibuprofeno aktyvumui (kai dozė 30 mg/kg). Laktukopikrinas pasižymėjo stipriausiu analgetiniu poveikiu. Nustatyta, kad laktucinas ir laktukopikrinas veikia raminančiai [35].

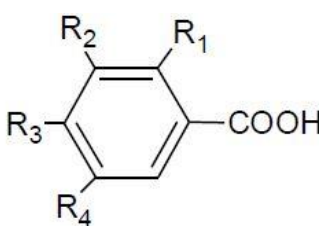
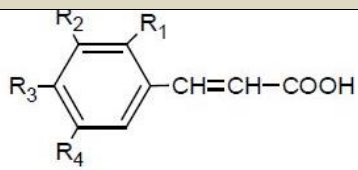
## 1.5. Fenolinių junginių klasifikacija ir struktūros ypatumai

Fenoliniai junginiai yra augalų antriniai metabolitai, natūraliai randami augaluose, vaisiuose, daržovėse, grūduose, alyvuogių aliejuje, kavoje, arbatoje ir šokolade [36,37]. Augalų fenoliniai junginiai yra svarbūs augalų prisitaikymui ir apsaugai. Jie apsaugo nuo UV spektro spindulių dėl savo absorbcinių savybių 280-315 nm srityje [38], patogenų, parazitų ir kenkėjų, suteikia augalui spalvą [20]. Fenoliniai junginiai yra natūralūs antioksidantai, kurie apsaugo nuo ligų, susijusių su oksidaciniu stresu (pvz. vėžys, kardiovaskulinės ir neurodegeneracinės ligos) [39,40].

Fenoliniai junginiai klasifikuojami į skirtingas grupes atsižvelgiant į struktūros ypatumus. Išskiriamos pagrindinės grupės: fenolinės rūgštys, flavonoidai, stilbenai, kumarinai, lignanai, ksantonai ir chromonai [41]. Pagrindinės iš jų yra fenolinės rūgštys ir flavonoidai [37].

**Fenolinės rūgštys** skirstomos į dvi grupes: hidroksibenzenkarboksirūgštys ir hidroksicinamono rūgštys (1 lentelė). Fenolinės rūgštys randamos esterių, glikozidų ar amidų pavidalu. Rečiau – laisvos [37,42]. Hidroksibenzenkarboksirūgštys turi C<sub>6</sub>-C<sub>1</sub> struktūrą ir 7 anglies atomus. Tai paprasčiausios struktūros fenolinės rūgštys randamos gamtoje. Hidroksicinamono rūgštys yra cinamono rūgšties dariniai, turintys C<sub>6</sub>-C<sub>3</sub> struktūrą ir 9 anglies atomus. Visoms fenolinėms rūgštims būdinga struktūra – benzeno žiedas, karboksirūgšties grupė ir viena ar daugiau hidroksi arba metoksi grupių [42].

1 lentelė. Fenolinių rūgščių klasifikacija

Fenolinės rūgštys		
Hidroksibenzenkarboksirūgšties dariniai		
	R <sub>1</sub> =H, R <sub>2</sub> =CH <sub>3</sub> O, R <sub>3</sub> =OH, R <sub>4</sub> =H	Protokatecho rūgštis
	R <sub>1</sub> =H, R <sub>2</sub> =CH <sub>3</sub> O, R <sub>3</sub> =OH, R <sub>4</sub> =CH <sub>3</sub> O	Siringo rūgštis
	R <sub>1</sub> =H, R <sub>2</sub> =OH, R <sub>3</sub> =OH, R <sub>4</sub> =OH	Galo rūgštis
	R <sub>1</sub> =H, R <sub>2</sub> =CH <sub>3</sub> O, R <sub>3</sub> =OH, R <sub>4</sub> =CH <sub>3</sub> O	Vanilino rūgštis
	R <sub>1</sub> =H, R <sub>2</sub> =H, R <sub>3</sub> =OH, R <sub>4</sub> =H	p-hidroksibenzoinė rūgštis
	R <sub>1</sub> =H, R <sub>2</sub> =H, R <sub>3</sub> =H, R <sub>4</sub> =OH	Salicilo rūgštis
	R <sub>1</sub> =OH, R <sub>2</sub> =H, R <sub>3</sub> =OH, R <sub>4</sub> =H	Gentiso rūgštis
Hidroksicinamono rūgšties dariniai		
	R <sub>1</sub> =H, R <sub>2</sub> =OH, R <sub>3</sub> =OH, R <sub>4</sub> =H	Kavos rūgštis
	R <sub>1</sub> =OH, R <sub>2</sub> =CH <sub>3</sub> O, R <sub>3</sub> =OH, R <sub>4</sub> =CH <sub>3</sub> O	Sinapo rūgštis
	R <sub>1</sub> =OH, R <sub>2</sub> =H, R <sub>3</sub> =H, R <sub>4</sub> =H	o-kumaro rūgštis

	R <sub>1</sub> =H, R <sub>2</sub> =OH, R <sub>3</sub> =H, R <sub>4</sub> =H	m-kumaro rūgštis
	R <sub>1</sub> =H, R <sub>2</sub> =H, R <sub>3</sub> =OH, R <sub>4</sub> =H	p-kumaro rūgštis
	R <sub>1</sub> =OH, R <sub>2</sub> =CH <sub>3</sub> O, R <sub>3</sub> =OH, R <sub>4</sub> =H	Ferulo rūgštis

Hidroksicinamono rūgštys retai augaluose randamos laisvos. Dažniausiai jos egzistuoja esterių pavidalu – susijungusios su ciklinėmis alkoholinėmis rūgštimis. Svarbiausi esteriai yra kavos rūgšties dariniai – chlorogeno rūgštis (kavos rūgšties ir kvino rūgšties esteris), cikoro rūgštis (kavos rūgšties ir tartaro rūgšties esteris), kaftaro rūgštis [32,36].

Chlorogeno rūgštis yra tirpus antrinis metabolitas, kuris būdingas astrinių šeimos augalams ir ypač dažnai randamas skirtingose trūkažolių rūšyse. Dėl savo cheminės sudėties chlorogeno rūgštis dalyvauja pritraukiant apdulkingojo, apsaugant nuo patogenų ir žolėdžių. Chlorogeno rūgštis kartu su kitais antriniais metabolitais pasižymi priešuždegiminiu, skausmą malšinančiu ir neuroprotekciniu poveikiu [44]. Tyrimų duomenimis nustatyta, kad chlorogeno rūgštis sudaro beveik 4 proc. bendro paprastųjų trūkažolių antioksidantinio aktyvumo [43].

Vienas svarbiausių paprastųjų trūkažolių sudėtyje esančių fenolinių junginių darinių – cikoro rūgštis. Nustatyta, kad cikoro rūgštis stimuliuoja fagocitozę *in vivo* ir *in vitro*, bei apsaugo kolageną nuo neigiamo laisvųjų radikalų poveikio. Tyrimų duomenimis nustatyta, kad cikoro rūgštis yra atsakinga už daugiau nei pusę viso paprastųjų trūkažolių antioksidantinio poveikio [43].

Fenolinės rūgštys pasižymi antioksidantiniu ir antiradikaliniu poveikiu dėl savo cheminės struktūros ir gebėjimo atiduoti elektroną ar vandenilio atomą. Aktyvumas priklauso nuo pakaitų, jų skaičiaus ir padėties žiede. Didesnis hidroksilo grupių skaičius garantuoja stipresnį antioksidantinį poveikį, atitinkamai fenolinis junginys, turintis dvi hidroksigrupes bus aktyvesnis už junginį, turintį tik vieną –OH grupę. Stipriausiu antioksidantiniu, antiradikaliniu ir vandenilio peroksidą sujungiančiu aktyvumu pasižymi galo rūgštis, turinti tris hidroksilo grupes. Didesnis nei trys –OH grupių skaičius antioksidantinio aktyvumo nepadidina. Nustatyta, kad hidroksilo grupės orto ir para padėtyse padidina antioksidantinį poveikį lyginant su junginiais, turinčiais hidroksilo grupę meta padėtyje (m-kumaro rūgštis). Taip pat antioksidantinį aktyvumą padidina ir metoksi grupės įterpimas orto padėtyje monofenoliniams junginiams [45].

**Flavonoidai.** Visi flavonoidai turi bendrą trijų žiedų struktūrą ir yra gaunami iš aromatinių amino rūgščių – fenilalanino ir tirozino. Flavonoidų bendra struktūra gali keistis molekulę hidrolizuojant, šarminant, glikozilinant ar į molekulę įterpiant hidrofobines funkcines grupes [46]. Flavonoidų aglikono struktūra – du šešianariai A ir B žiedai ir pirano arba pirono žiedas (žiedas C). A ir B žiedus tarpusavyje jungia trijų anglies atomų propaninis fragmentas. Įprastai B žiedas susijungia su C žiedu per antrą anglies atomą, tačiau gali jungtis ir per C<sub>3</sub> ir C<sub>4</sub>. Nors pagrindinė flavonoidų struktūra aglikonas, tačiau augaluose didžioji dalis junginių randami glikozidų pavidalu [47].

Flavonoidai klasifikuojami pagal savo cheminę sandarą ir propaninio fragmento oksidacijos laipsnį. Yra daug skirtingų flavonoidų klasifikacijų, tačiau dažniausiai naudojama klasifikacija, paremta C žiedo modifikacijomis:

- flavonoliai – kemferolis, mircetinas, kvercetas, galanginas, fisetinas,
- flavan-3-oliai (katechinai) – katechinas, epikatechinas, galokatechinas, epigalokatechinas,
- izoflavononai – genistas, daidzeinas, formononetinas,
- flavanonai – hesperidinas, naringeninas, eriodiktiolis,
- flavonai – apigeninas, luteolinas, chrizinas,
- antocianidinai – cianidinas, delfinidinas, malvidinas, pelargonidinas [37,42].

Klasifikacija, paremta B žiedo prisijungimo prie chromano žiedo padėtimi:

- flavonoidai – 2-fenilbenzopirani (flavanai, flavanonai, flavonai, flavonoliai, dihidroflavonoliai, flavan-3-oliai, flavan-4-oliai ir flavan-3,4-dioliai)
- izoflavonoidai – 3-benzopirani (izoflavanai, izoflavonai, izoflavanonai, izoflav-3-enai, izoflavanoliai, 3-arilkumarinai, tetracikliniai izoflavonoidai (kumaronochromonai, pterokarpanai, kumestanai, rotenoidai))
- neoflavonoidai – 4-benzopirani (4-arilkumarinai, 3,4-dihidro-4-arilkumarinai, noeflavenai)
- kiti flavonoidai [48].

Šiuo metu žinoma virš 7000 skirtingų flavonoidų ir kasmet jų skaičius vis didėja [42]. Flavonoidų skaičius toks didelis dėl skirtingų galimų kombinacijų tarp flavonoidų aglikono ir skirtingų prisijungiančių angliavandenių. Prie skirtingų aglikono hidroksilo grupių gali prisijungti bent 8 skirtingi monosacharidai ar jų kombinacijos (disacharidai ar trisacharidai). Dažniausiai prisijungiantys cukrai – D-gliukozė ir L-ramnozė [49].

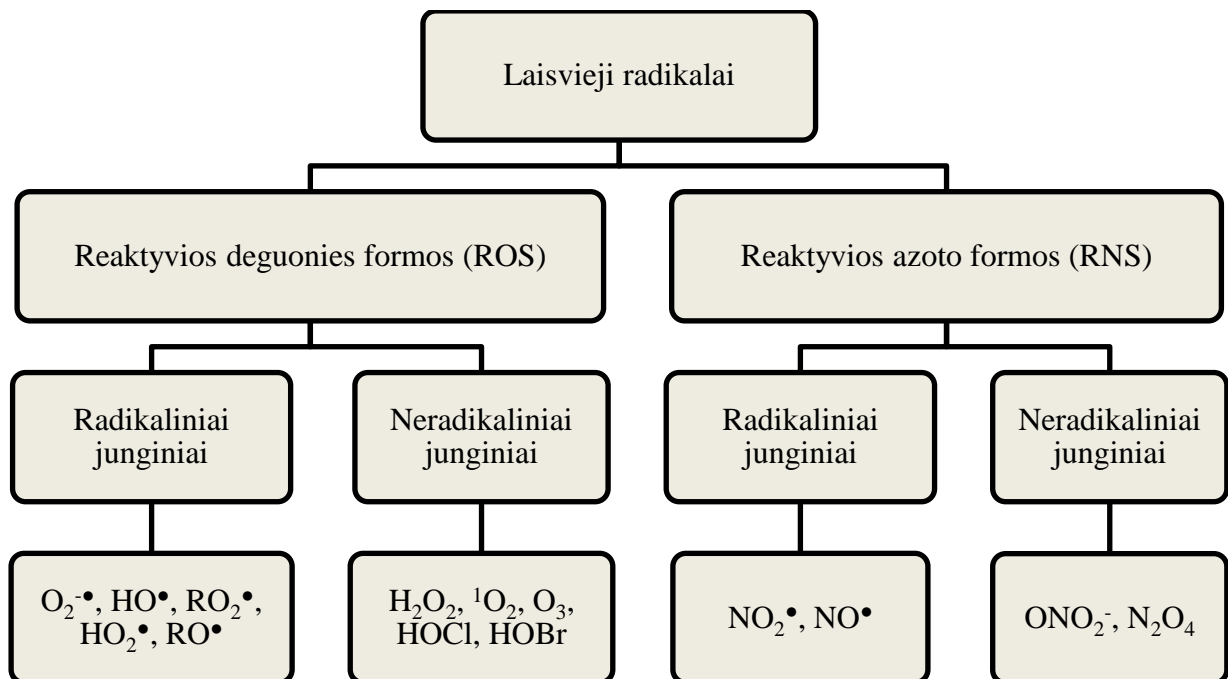
Flavonoidų antiradikalinis aktyvumas priklauso nuo junginių cheminės struktūros. Pavyzdžiui, junginių glikozilinimas antiradikalinį aktyvumą mažina. Taip pat kaip ir C žiedo C<sub>3</sub> padėtyje esančios –OH grupės blokavimas ar pašalinimas mažina antioksidantinį aktyvumą. Antioksidantinis ir antiradikalinis aktyvumai didėja esant didesniai –OH grupių skaičiui B žiede. Jei B žiede nėra –OH grupių ar prijungtos metoksi grupės – tokie junginiai nepasižymi laukiamu poveikiu. Antiradikalinį aktyvumą galimai didina dviguba jungtis tarp C<sub>2</sub> ir C<sub>3</sub> atomų C žiede [45].



## 1.6. Laisvieji radikalai, oksidacinis stresas ir endogeninės antioksidantinės sistemos

Laisvieji radikalai – tai chemiškai aktyvūs vienetai (atomas, molekulių grupė ar jonas), turintys neporinius elektronus išorinėje orbitalėje [50–54]. Dažniausiai jie yra nestabilūs, veikiantys trumpai ir toje vietoje, kurioje ir susidarė. Stabilesni laisvieji radikalai gali pereiti membranas ir pažeisti kitas ląsteles. Laisvieji radikalai ląstelėje sukelia DNR grandinės trūkius, baltymų fragmentaciją ir lipidų peroksidaciją [50,55]. Reaguodami su kitomis medžiagomis jie skatina naujų radikalų atsiradimą ir taip vyksta grandininė reakcija [53].

Laisvieji radikalai yra skirstomi į reaktyvios deguonies (ROS) ir reaktyvios azoto (RNS) formas radikalus (1 pav.). Jie žmogaus organizme nuolat susidaro vykstant normaliam ląsteliniam metabolizmui [54] arba veikiant išoriniams veiksniams – rentgeno spinduliuotei, ozonui, cigarečių dūmams, oro taršai ir įvairiems chemikalams [55]. Laisvieji radikalai organizme formuojasi vykstant tiek fermentų katalizuojamoms (kvėpavimo, fagocitozės, prostaglandinų sintezės, citochromo P-450 sistemos reakcijoms), tiek nekatalizuojamoms reakcijoms [55]. Laisvieji radikalai yra būtini normaliam ląstelės funkcionavimui – jie apsaugo nuo kenksmingų ir patogeninių medžiagų patekimo į organizmą veikdami kaip antrinio signalo perdavėjai, taip pat dalyvauja reguliuojant kraujo spaudimą, trombozę [50,54,56].

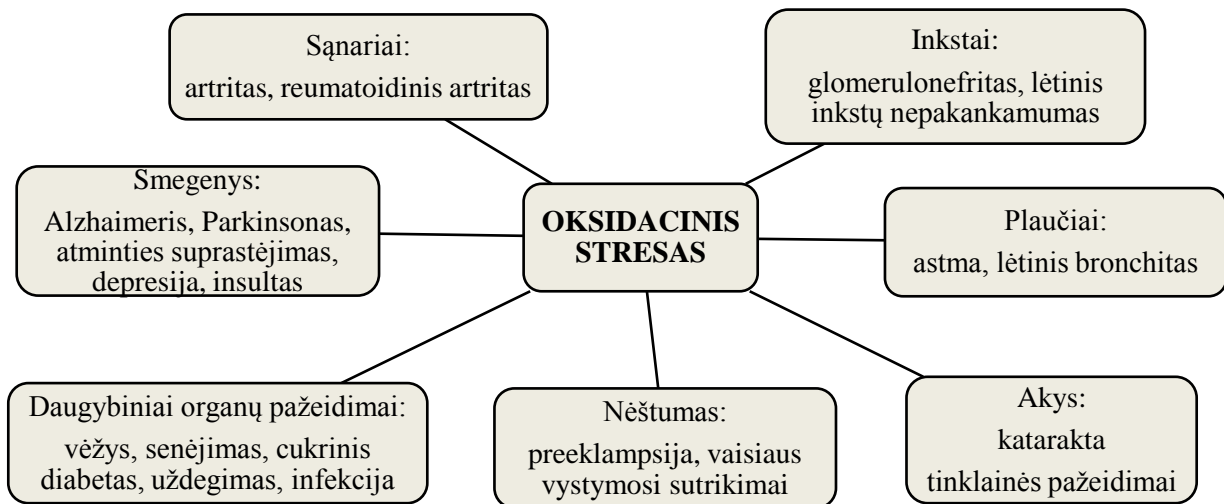


1 pav. Laisvųjų radikalų klasifikacija [55,57]

Kai organizme laisvųjų radikalų ir oksidantų kiekis padidėja arba sutrinka balansas tarp antioksidantinės organizmo sistemos ir laisvųjų radikalų gamybos sukiamas oksidacinis stresas [55–57]. Dažniausiai oksidacinio streso metu yra pažeidžiami:

- **Lipidai.** Dažniausia lipidų oksidacijos vieta yra ląstelės membraną gaubiantys fosfolipidai. Malonaldehidas (MDA) yra dažniausias lipidų oksidacijos produktas. Jis reaguodamas su laisvomis baltymų amino grupėmis, fosfolipidais ir nukleorūgštimis sukelia imuninės sistemos disfunkciją. Padidėjęs lipidų oksidacijos produktų kiekis randamas sergant cukriniu diabetu, ateroskleroze, širdies, kraujagyslių ir kepenų ligomis bei vėžiu [51,57–59].
- **Baltymai.** Kiekviena iš baltymus sudarančių amino rūgščių yra neatspari oksidaciniam stresui. Labiausiai pažeidžiamos – metioninas, cisteinas, argininas ir histidinas. Oksidacinis stresas sukelia peptidinių jungčių destrukciją ir proteinų fragmentaciją. Baltymų oksidacija taip pat gali sumažinti arba sustiprinti jų katalizines savybes, receptorines ir membranos transporto funkcijas [55,59]. Signalų perdavimo mechanizmą, atsparumą karščiui, proteolizei paveikia proteinų oksidacija, kuri taip pat sukelia senėjimą [57].
- **DNR.** Tyrimų metu nustatyta, kad tiek DNR, tiek RNR yra jautrūs oksidaciniam stresui. Nustatyta, kad labiausiai pažeidžiamas mitochondrijų DNR. Šis pažeidimas gali būti vėžio ir kitų ligų pradžia [55].

Oksidacinis stresas yra siejamas su įvairių organų pažeidimu ir ligų atsiradimu (2 pav.):



**2 pav. Oksidacinio streso pažeidžiami organai ir sukeliamos ligos [56]**

Žmogaus organizmas prisitaiko prie laisvųjų radikalų ir jų sukeliamo oksidacinio streso pasitelkdamas gynybos mechanizmus: 1) prevencinį mechanizmą, 2) atstatomąjį mechanizmą, 3) fizinę gynybą ir 4) antioksidantinę organizmo sistemą [54]. Antioksidantai yra medžiagos, kurios saugo nuo žalingo oksidacinių reakcijų poveikio ir gali sumažinti ar nutolinti laisvųjų radikalų veikimą ar

sustabdyti jų susidarymą [50,59]. Antioksidantai yra klasifikuojami į fermentinius ir nefermentinius antioksidantus (2 lentelė):

**2 lentelė. Organizmo antioksidantinė sistema**

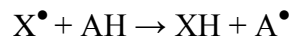
Fermentiniai antioksidantai			
Superoksido dismutazė (SOD). Pirmos eilės gynybinės sistemos dalis prieš ROS. $O_2^{\bullet}$ paverčia $H_2O_2$ [57].			
Gliutatono peroksidazė (GPx). Tai fermentas, turintis sudėtyje seleno ir katalizuojantis $H_2O_2$ iki vandens ir $O_2$ [55]. Taip pat jis pašalina $H_2O_2$ iš organizmo panaudodamas jį gliutatono oksidacijai [56].			
Katalazė – katalizuoja $H_2O_2$ iki vandens ir $O_2$ [55].			
Nefermentiniai antioksidantai			
Endogeniniai antioksidantai	Lipoidinė rūgštis Kofermentas Q10 Melatoninas Šlapimo rūgštis Bilirubinas Transferinas Metalus surišantys proteinai Glutathionas L-argininas	Egzogeniniai antioksidantai	Vit.E ir vit.C Karotenoidai Metalai (selenas, manganas, cinkas) Flavonoidai Omega-3 ir omega-6 r.r. [56]

### 1.7. Antioksidantinio aktyvumo nustatymo metodai

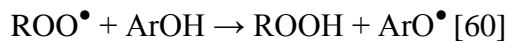
Antioksidantinis aktyvumas yra įvertinamas skirtingais metodais, kurie pagrįsti elektronų perdavimo (EP) arba vandenilio atomo perdavimo (VAP) reakcijomis [60]. Antioksidantai deaktyvuoja laisvuosius radikalus dviem skirtingais mechanizmais: elektronų perdavimo ir vandenilio atomo perdavimo. Abiejų mechanizmų galutinis rezultatas tas pats – sustabdomas laisvųjų radikalų veikimas, tačiau skiriasi mechanizmų kinetika ir galimos šalutinės reakcijos. Tiek EP tiek VAP reakcijos gali vykti vienu metu, tačiau dominuojantis bus tik vienas iš mechanizmų. Kuris mechanizmas dominuos tam tikroje sistemoje nustatoma pagal antioksidanto struktūrą, savybes, tirpumą, pasiskirstymo koeficientą ir tirpiklių sistemą. Du pagrindiniai faktoriai, nustatantys

antioksidantų veiksmingumą ir antioksidantinio poveikio mechanizmą, yra cheminės jungties disociacijos energija ir jonizacijos potencialas [61].

VAP metodai išmatuoja antioksidanto gebėjimą sumažinti laisvųjų radikalų veikimą pernešdami vandenilio atomą, t.y. antioksidantai tampa H donorais [61]:

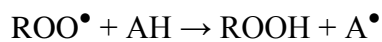
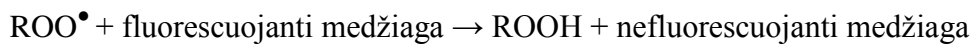
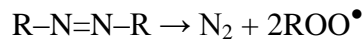


Vykstant VAP reakcijoms polifenoliniuose junginiuose vandenilio atomas iš fenolio yra pernešamas radikalui:



VAP reakcijos yra nepriklausomos nuo tirpiklio ir pH, taip pat vyksta gan greit (trunka nuo kelių sekundžių iki kelių minučių) [60]. Pagrindiniai VAP metodai yra: ORAC, TRAP, krocino ir  $\beta$ -karoteno blukinimo metodas [60].

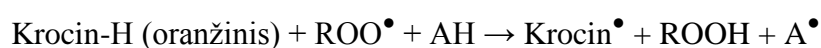
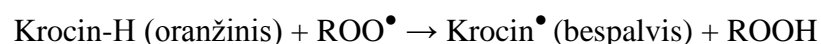
**ORAC.** Šiuo metodu galima išmatuoti antioksidanto gebą slopinti oksidaciją, kurią sukėlė peroksilo radikalas. Jis reaguoja su fluorescuojančia medžiaga ir paverčia ją nefluorescuojančia. Kaip fluorescuojančios medžiagos seniau buvo naudojamas B-fiksoeritrinas, dabar naudojamas fluoresecinas ar dichlorofluoresceinas. ORAC reakcijos lygtys:



Po reakcijos yra matuojamas fluorescencijos intensyvumas ir pagal tai nustatomas antioksidantinis aktyvumas. Išmatuotos reikšmės išreiškiamos trolokso ekvivalentu ( $\mu\text{mol TE/g}$  arba  $\mu\text{mol TE/l}$ ) [61]. ORAC dažniausiai naudojamas matuoti maisto produktų, gėrimų antioksidantiniam poveikiui. Taip pat ORAC metodu matuojamas ir žmogaus kraujo antioksidantinis aktyvumas [62].

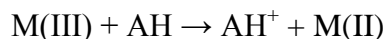
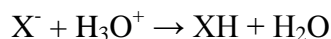
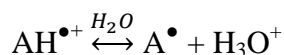
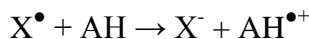
**TRAP.** Šis metodas panašus į ORAC. Jis naudojamas nustatyti bendrą antioksidantinį aktyvumą, matuojamą sunaudotu deguonimi lipidų oksidacijos reakcijoms [62]. Pagrindiniai metodo reikalavimai yra: fluorescuojanti medžiaga turi reaguoti su  $ROO^{\bullet}$  net ir esant mažoms koncentracijoms, turi būti didelis absorbcijos pokytis prieš reakciją ir po jos, reakcijos metu neturi įvykti kitų, šalutinių reakcijų. Įvykusi fluorescuojančios medžiagos oksidacija stebima optiniais arba fluorescenciniais nustatymo metodais. TRAP metodu išmatuotos reikšmės išreiškiamos trolokso ekvivalentu. TRAP tyrimas yra gana sudėtingas, reikalaujantis daug laiko [61].

**Krocino ir  $\beta$ -karoteno blukinimo metodas, paremtas autooksidacija.** Karotinoidai oksiduojasi paveikti šviesos, šilumos ar peroksilo radikalų. Oksidacija sukelia karotinoidų blukimą, kurį stabdo antioksidantai, perduodami vandenilio joną:



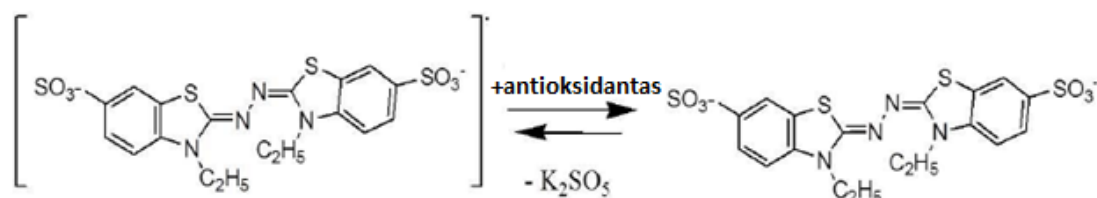
Oksidacijos reakcija yra stebima spektrofotometriniais metodais prie 470 nm ( $\beta$ -karotenui) ir 443 nm (krociniui) bangos ilgių. Tyrimui dažniau naudojamas krocinas, nes jis stabilesnis nei karotinoidai ir jį oksiduoja tik laisvieji radikalai [61].

EP reakcijos pagrįstos antioksidanto geba perduoti elektroną betkokiam junginiui – metalams, karbonilams, laisviesiems radikalams [61]:



EP reakcijos yra gana lėtos, ilgai trunka ir yra priklausomos nuo pH. Tyrimai, pagrįsti EP reakcijomis, matuoja antioksidanto gebėjimą redukuoti oksidantą. Vykstant redukcijai pasikeičia oksidanto spalva ir būtent pagal spalvos pasikeitimo stiprumą ir yra apskaičiuojamas antioksidantinis aktyvumas [60]. Pagrindiniai EP metodai yra: ABTS, TEAC ir DPPH, Folin-Ciocalteu, FRAP, CUPRAC [60].

**ABTS** arba **TEAC**. Tyrimas pirmiausia buvo pavadintas TEAC, ir tik po kurio laiko pasikeitus tyrimo atlikimo eigai pervadintas į ABTS. Šio metodo esmė tokia, kad nespaltotas ABTS radikalas paverčiamas spalvotu  $ABTS^{\bullet+}$  katijonu ir tyrimo metu yra matuojama antioksidantų geba sumažinti spalvoto radikalo spalvos intensyvumą (3 pav.) [63]. ABTS reikšmė išreiškiama trolokso ekvivalentu [61,64].



3 pav. Nespaltoto ABTS radikalas pavirtimas spalvotu  $ABTS^{\bullet+}$  katijonu

$ABTS^{\bullet+}$  sukuriamas cheminių (mangano dioksido, kalio persulfato ( $K_2S_2O_8$ )) arba fermentinių reakcijų (metmioglobino, hemoglobino, krienų peroksidazės) metu. Šioms reakcijoms reikia daug laiko, aukštos temperatūros (apie  $60^{\circ}C$ ). Absorbcijos maksimumas matuojamas spektrofotometriniais metodais prie 415, 645, 734 ir 814 nm bangos ilgių [61].

**DPPH**.  $DPPH^{\bullet}$  radikalas yra vienas iš stabilių organinių azoto radikalų. Spalva – tamsiai violetinė. Šio metodo privalumas lyginant su ABTS, kad radikalo nereikia pasiruošti prieš tyrimą, nes jis stabilus ir laikosi radikalinėje formoje. Radikalui reaguojant su antioksidantu spalva iš tamsiai

violetinės pereina į bespalvę. Spalvų pokytis išmatuojamas ties 515 nm bangos ilgiu [60,61,65]. Antioksidantinis aktyvumas yra ekvivalentiškas  $\text{DPPH}^{\bullet}_{\text{REM}}$  ir yra apskaičiuojamas pagal formulę:

$$\% \text{DPPH}^{\bullet}_{\text{REM}} = 100 \times [\text{DPPH}^{\bullet}]_{\text{REM}} / [\text{DPPH}^{\bullet}]_{T=0}$$

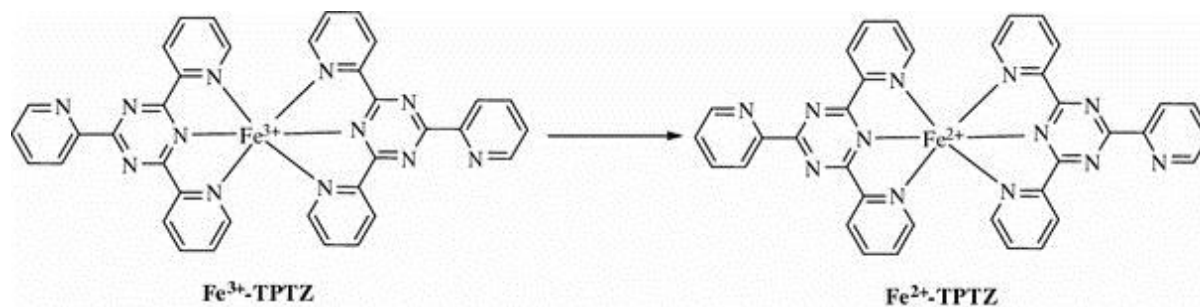
DPPH testas gana paprastas, greitai atliekamas, naudojama paprasta aparatūra [61].

**Folin-Ciocalteu.** Šis metodas naudojamas bendram fenolinių junginių kiekiui tiriamojoje medžiagoje nustatyti. Folin-Ciocalteu metodas paremtas fenolių reakcija su fosfomolibdato ir fosfovolframo rūgščių kompleksu. Po reakcijos spalva pereina iš gelsvos į mėlyną [60,61]:



Spalvos pasikeitimas išmatuojamas spektrofotometriškai, ties bangos ilgiu 765 nm. Folin-Ciocalteu metodas yra paprastas, jautrus, tikslus, tačiau gana lėtas ir jam trūksta specifiškumo [60]. Folin-Ciocalteu metodas gali būti naudojamas nustatyti redukcines savybės, dėl tos priežasties gali būti naudojamas kaip antioksidantinio aktyvumo nustatymo metodas [61,66].

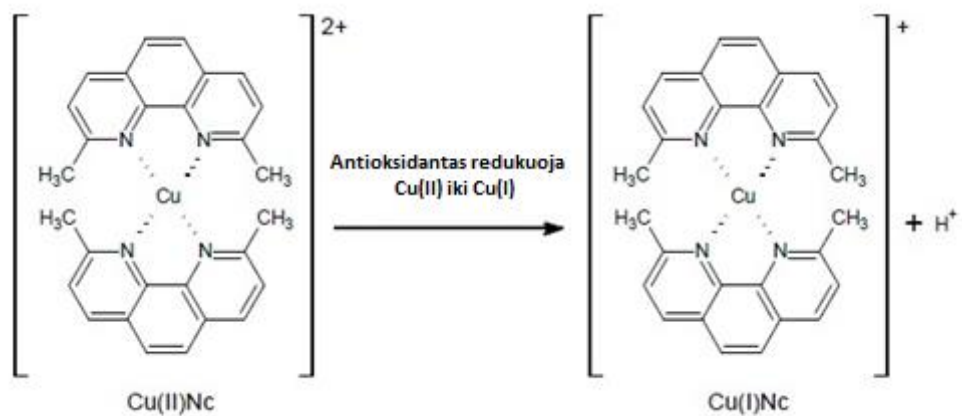
**FRAP.** Originaliai FRAP metodas buvo atrastas išmatuoti plazmos redukcines savybės [67], tačiau laikui bėgant pritaikytas antioksidantiniam nustatymui augaluose. Metodo esmė: matuojamas TPTZ virtimas tamsiai mėlynos spalvos produktu (4 pav.) [60]:



4 pav. TPTZ virtimas tamsiai mėlynos spalvos produktu

Tyrimas atliekamas rūgštineje 3,6 pH terpėje, tam, kad būtų išlaikomas geležies tirpumas. Absorbicija matuojama spektrofotometriškai ties 595 nm ilgio banga. FRAP metodas paprastas, greitas, pigus ir nereikalauja specialios įrangos [60].

**CUPRAC.** Šis metodas panašus į FRAP, tik vietoje geležies yra naudojamas varis. Metodo esmė – divalentis varis yra redukuojamas iki vienvalenčio (5 pav).



**5 pav. Dvivalenčio vario redukcija iki vienvalenčio**

Absorbicija matuojama spektrofotometriškai esant 450 nm bangos ilgiui (skirtingose literatūrose nurodomas 490 nm bangos ilgis) [60,61]. CUPRAC geresnis nei FRAP, nes tyrimui nereikalinga rūgštinė terpė, varis turi mažesnį redokso potencialą, todėl yra selektyvesnis ir tinkamesnis tirti įvairesniems antioksidantams [60].

## 2. TYRIMO METODIKA

### 2.1. Tyrimo objektas ir metodai

Tyrimo objektas – natūraliai augančių paprastųjų trūkažolių žolė ir šaknys, surinktos 2016 metais.

Paprastųjų trūkažolių šaknys rinktos vegetacijos pradžioje (birželio mėn. pradžioje) ir sėklų brandos metu (rugsėjo mėn. pabaigoje). Žolė rinkta visos vegetacijos laikotarpiu Kauno rajone, Kleboniščio miško parke (54° 56' 34.7", 23° 56' 35.38" (WGS)). Masinio žydėjimo metu žolė surinkta iš įvairių Lietuvos regionų (3 lentelė).

Žaliava džiovinta kambario temperatūroje, gerai vėdinamose patalpose, apsaugota nuo tiesioginių saulės spindulių. Išdžiovinta žaliava laikyta popieriniuose maišeliuose, sausoje, vėdinamoje patalpoje, apsaugotoje nuo tiesioginių saulės spindulių.

3 lentelė. Tyrimo objekto rinkimo vieta, rinkimo data ir vegetacinis laikotarpis

Augalinė žaliava	Rinkimo vieta	Rinkimo data	Vegetacinis laikotarpis
Šaknys	Kaunas (Kleboniščio miško parkas) (54° 56' 34.7", 23° 56' 35.38" (WGS))	Birželio 9 d.	Vegetacijos pradžia
Šaknys	Kaunas (Kleboniščio miško parkas) (54° 56' 34.7", 23° 56' 35.38" (WGS))	Rugsėjo 20 d.	Sėklų branda
Žolė	Kaunas (Kleboniščio miško parkas) (54° 56' 34.7", 23° 56' 35.38" (WGS))	Birželio 9 d.	Vegetacijos pradžia
Žolė	Kaunas (Kleboniščio miško parkas) (54° 56' 34.7", 23° 56' 35.38" (WGS))	Birželio 22 d.	Butonizacija
Žolė	Kaunas (Kleboniščio miško parkas) (54° 56' 34.7", 23° 56' 35.38" (WGS))	Liepos 7 d.	Žydėjimo pradžia
Žolė	Kaunas (Kleboniščio miško parkas) (54° 56' 34.7", 23° 56' 35.38" (WGS))	Liepos 21 d.	Masinis žydėjimas
Žolė	Kaunas (Kleboniščio miško parkas) (54° 56' 34.7", 23° 56' 35.38" (WGS))	Rugpjūčio 8 d.	Masinis žydėjimas
Žolė	Kaunas (Kleboniščio miško parkas) (54° 56' 34.7", 23° 56' 35.38" (WGS))	Rugpjūčio 25 d.	Masinis žydėjimas
Žolė	Kaunas (Kleboniščio miško parkas)	Rugsėjo 4 d.	Žydėjimo pabaiga



	(54° 56' 34.7", 23° 56' 35.38" (WGS))		
Žolė	Kaunas (Kleboniškių miško parkas) (54° 56' 34.7", 23° 56' 35.38" (WGS))	Rugsėjo 20 d.	Sėklų branda
Žolė	Kaunas (Kleboniškių miško parkas) (54° 56' 34.7", 23° 56' 35.38" (WGS))	Spalio 4 d.	Vegetacijos pabaiga
Žolė	Alytaus raj. (Daugai) – dirvonas (54° 20' 43.34", 24° 19' 58.36" (WGS))	Liepos 31 d.	Masinis žydėjimas
Žolė	Telšių raj. (Ryškėnai) – dirvonas (55° 57' 16.32", 22° 13' 17.3" (WGS))	Liepos 18 d.	Masinis žydėjimas
Žolė	Vilniaus raj. (Paneriai) – Neries upės pakrantė (54° 55' 32.53", 24° 45' 32" (WGS))	Liepos 20 d.	Masinis žydėjimas
Žolė	Klaipėdos miestas – Draugystės parkas (55° 40' 49.34", 21° 10' 58.28" (WGS))	Liepos 23 d.	Masinis žydėjimas
Žolė	Molėtų raj. (Ambraziškiai) – pieva (55° 9' 1.53", 25° 17' 42.74" (WGS))	Liepos 23 d.	Masinis žydėjimas
Žolė	Trakų miestas – pamiškė (54° 39' 17.55", 24° 54' 42.75" (WGS))	Liepos 16 d.	Masinis žydėjimas
Žolė	Panevėžio raj. (Janališkiai) – pieva (55° 49' 19.99", 24° 16' 23.94" (WGS))	Liepos 24 d.	Masinis žydėjimas

**Naudoti reagentai ir tirpikliai.** 96 proc. V/V etanolis (UAB „Stumbras“, Kaunas, Lietuva), acto rūgštis 99,8–100,5% (CH<sub>3</sub>COOH) („Sigma-Aldrich Chemie“, Vokietija); aliuminio trichlorido heksahidratas (AlCl<sub>3</sub> x 6H<sub>2</sub>O) („Fluka“, Vokietija), heksametilentetraminas („Roth“, Vokietija); rutinas („Roth“, Karlsruhe, Vokietija), natrio nitritas (NaNO<sub>2</sub>) („Sigma-Aldrich Chemie“, Vokietija), natrio molidbatas (Na<sub>2</sub>MoO<sub>4</sub>) (Alfa Aesar“, Vokietija), natrio hidroksidas (NaOH) (Chempur, Lenkija), 37% vandenilio chlorido rūgštis (HCl) („Sigma-Aldrich Chemie“, Vokietija), ABTS (2,2'-azino-bis-(3 etilbenzotiazolin-6-sulfono rūgštis) reagentas („Alfa Aesar“, Vokietija), kalio persulfatas (K<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>8</sub>) („Alfa Aesar“, Vokietija), troloksas ((+/-)-6-Hidroksi-2,5,7,8-tetra-metilchromano-2-karboksilinė rūgštis) („Sigma-Aldrich Chemie“, Vokietija), natrio acetato trihidratas (CH<sub>3</sub>COONa x 3H<sub>2</sub>O) (Scharlau, Ispanija), TPTZ (2,4,6-tripiridil-striazinas, Carl Roth, Karlsruhe, Vokietija), geležies (III) chlorido heksahidratas (FeCl<sub>3</sub> x 6H<sub>2</sub>O) (Vaseline-Fabrik Rhenania, Bonn, Vokietija) acetonitrilas (ESC grynumo) („Sigma-Aldrich Chemie“, Vokietija), 99,8 proc. skruzdžių rūgštis („Carl Roth GmbH“, Vokietija), chlorogeno rūgštis, cikoro rūgštis, kaftaro rūgštis, liuteolino-7-O-gliukozidas („Sigma-Aldrich Chemie“, Šveicarija).

**Naudota aparatūra.** Elektrinis malūnėlis („Binatone“, Jungtinė Karalystė), analitinės svarstyklės („Sartorius AG Gottingen CP64-OCE“, Vokietija); ultragarso vonelė „Elmasonic P“ (Elma, Vokietija); naudotas spektrofotometras „Spectronic Camspec M550“ (Jungtinė Karalystė), chromatografinė analizė atlikta naudojant „Waters 2695“ (Milford, USA) chromatografą.

**Ekstrakto paruošimas.** Paprastųjų trūkažolių šaknys ir žolė buvo susmulkinti elektriniu smulkintuvu. Susmulkintos žaliavos atsveriami 0,3 g (tikslus svėrinys), suberiama į tamsaus stiklo buteliuką ir užpilama 30 ml 70 proc. V/V etanolio. Buteliukas sandariai uždaromas ir dedamas ekstrahuotis į ultragarso vonelę. Ekstrahavimas vykdomas kambario temperatūroje (30° C), dažnis – 37, ultragarso stipris – 480 W. Ekstrahavimas vykdomas 30 minučių. Ekstraktai filtruojami pro popieriaus filtrą į švarius ir sausus tamsaus stiklo buteliukus. Pagaminti ekstraktai sandariai uždaromi ir laikomi tamsioje vietoje.

### 2.1.1. Hidroksicinamono rūgšties darinių kiekio nustatymas spektrofotometriniu metodu

**Arnou reagento gamyba.** Pasveriamas tikslus 10,00 g natrio molibdato kiekis, ištirpinamas 70-80 ml išgryninto vandens. Pasveriamas tikslus 10,00 g natrio nitrito kiekis, kuris ištirpinamas gautame natrio molibdato tirpale ir praskiedžiamas išgrynintu vandeniu iki 100 ml.

**Tiriamąjo tirpalo gamyba.** Į kolbutę pilama 1 ml tiriamo ekstrakto, 2 ml 0,5 M vandenilio chlorido rūgšties, 2 ml Arnou reagento ir 2 ml praskiesto natrio šarmo. Gautas tirpalas praskiedžiamas išgrynintu vandeniu iki 10 ml ir sumaišoma.

**Lyginamojo tirpalo gamyba.** Į kolbutę pilamas 1 ml tiriamo ekstrakto, 2 ml 0,5 M vandenilio chlorido rūgšties, 2 ml praskiesto natrio šarmo. Gautas tirpalas praskiedžiamas išgrynintu vandeniu iki 10 ml ir sumaišoma. Tiriamojo tirpalo absorbcija matuojama spektrofotometru, esant 525 nm bangos ilgiui ir lyginama su lyginamuoju tirpalu. Bendras procentinis hidroksicinamono rūgšties darinių kiekis ekstrakto perskaičiuotas chlorogeno rūgštimi remiantis formule. Bendras hidroksicinamatų kiekis vėliau perskaičiuotas į mg/g.

$$X(\%) = \frac{A * V * S * 10}{188 * m}$$

A – absorbcija,

V – pagaminto ekstrakto tūris (ml),

S – skiedimas,

m – tikslus atsvertos žaliavos kiekis (g).

### 2.1.2. Bendro flavonoidų kiekio nustatymas spektrofotometrinio metodu

**Tiriamajo tirpalo gamyba.** Į 5 ml matavimo kolbutę įpilama 0,2 ml augalinės žaliavos ekstrakto, 2 ml 96 proc. V/V etanolio, 0,1 ml 30 proc. acto rūgšties tirpalo, 0,3 ml 10 proc. aliuminio chlorido tirpalo, 0,4 ml 5 proc. heksametilentetramino tirpalo. Kolbutės turinys skiedžiamas išgrynintu vandeniu iki 5 ml žymės, sumaišoma. Mišinys laikomas tamsoje 30 minučių.

**Lyginamojo tirpalo gamyba.** Į 25 ml matavimo kolbutę įpilant 0,2 ml augalinės žaliavos ekstrakto, 2 ml 96 proc. V/V etanolio, 0,1 ml 30 proc. acto rūgšties tirpalo. Kolbutės turinys skiedžiamas išgrynintu vandeniu iki 25 ml žymės. Spektrofotometru matuojama tiriamojo mėginio absorbcija, esant 407 nm bangos ilgiui ir lyginama su lyginamuoju tirpalu. Etaloninio rutino tirpalo tiriamasis ir lyginamasis tirpalai ruošiami tokios pačiomis sąlygomis kaip ir vaistinės augalinės žaliavos ekstraktų tirpalai, tik vietoj 0,2 ml tiriamojo ekstrakto pilama 0,4 ml etaloninio rutino tirpalas.

**Etaloninio rutino tirpalo gamyba.** Etaloninis rutino tirpalas ruošiamas 0,0125 g rutino ištirpinus 20 ml 70 proc. V/V etanolyje. Paruošiami 5 skirtingų koncentracijų tirpalai (0,2 mg/ml, 0,4 mg/ml, 0,6 mg/ml, 0,8 mg/ml, 1 mg/ml). Nustačius tirpalų absorbcijas sudaroma kalibracinė kreivė. Duomenys įvertinami pagal rutino kalibracinio grafiko tiesinės regresijos lygtį –  $y=0,758x+0,0038$ ;  $R^2=0,99$ ;  $p<0,05$ .

Suminis flavonoidų kiekis išreiškiamas rutino ekvivalentais gramui sausos žaliavos. Apskaičiuojama pagal formulę:

$$X = \frac{C \times V}{m}$$

C – rutino koncentracija (mg/ml), nustatyta iš kalibracinės kreivės,

V – ekstrakto tūris (ml),

m – atsvertas tikslus žaliavos kiekis (g).

### 2.1.3. Antiradikalinio aktyvumo įvertinimas ABTS metodu

**2mM koncentracijos ABTS tirpalo gamyba.** ABTS milteliai ištirpinami 50 ml distiliuoto vandens tamsaus stiklo buteliuke. Po to į gautą tirpalą dedama 0,0095 g kalio persulfato. Mišinys sumaišomas ir paliekamas tamsoje 16 val.

**Darbinio ABTS tirpalo gamyba.** 2mM koncentracijos ABTS tirpalas praskiedžiamas distiliuotu vandeniu iki 0,800 absorbcijos vienetų, esant 734 nm bangos ilgiui, kaip lyginamąjį tirpalą naudojant distiliuotą vandenį.

**Tiriamąojo tirpalo gamyba.** Imama 3 ml darbinio ABTS tirpalo ir pridedama 20 µl augalinio žaliavos ekstrakto. Mišinys laikomas tamsoje, kambario temperatūroje 1 valandą. Spektrofotometru matuojamas mišinio absorbcijos pokytis esant 734 nm bangos ilgiui, kaip lyginamąjį tirpalą naudojant distiliuotą vandenį. Pokytis apskaičiuojamas iš darbinio ABTS tirpalo absorbcijos atėmus tiriamųjų ekstraktų absorbciją.

Antiradikalinis aktyvumas išreiškiamas standartinio antioksidanto trolokso ekvivalentais (TE) gramui žaliavos. Skaičiuojama pagal formulę:

$$TE_{ABTS} = \frac{C \times V}{m}$$

C – trolokso koncentracija (µmol/L), nustatyta iš kalibracinės kreivės,

V – ekstrakto tūris (L),

m – tikslus atvertas žaliavos kiekis (g).

**Darbinių trolokso tirpalų gamyba.** Gaminami 6 skirtingų koncentracijų trolokso darbiniai tirpalai (400 µmol/L, 800 µmol/L, 1600 µmol/L, 2400 µmol/L, 3200 µmol/L, 4000 µmol/L).

Imama 3 ml darbinio ABTS tirpalo, pridedama 20 µl tiriamąojo trolokso tirpalo, sumaišoma ir laikoma 1 valandą tamsoje, kambario temperatūroje. Matuojama absorbcija, esant 734 nm bangos ilgiui, kaip lyginamąjį tirpalą naudojant distiliuotą vandenį. Apskaičiuojamas pokytis.. Duomenys įvertinami pagal trolokso kalibracinio grafiko tiesinės regresijos lygtį –  $y = 0,0002x + 0,0639$ ;  $R^2 = 0,9929$ ;  $p < 0,05$

#### 2.1.4. Redukcinio aktyvumo įvertinimas FRAP metodu

Reagentų gamyba:

- a) **300 mM acetatinis buferis:** atsveriamas 3,1 g natrio acetato, suberiama į 1000 ml matavimo kolbą, įpilama 16 ml ledinės acto rūgšties ir skiedžiama distiliuotu vandeniu iki žymės (pH 3,6).
- b) **TPTZ tirpalas.** Į 50 ml distiliuoto vandens įpilama 0,1695 ml koncentruotos druskos rūgšties. Gautame 40 mM druskos rūgšties tirpale tirpinami atsverti 0,1562 g TPTZ miltelių. Gaunamas 10 mM TPTZ tirpalas.
- c) **Geležies (III) chlorido heksahidrato tirpalas.** Atsveriamas 0,2703 g geležies (III) chlorido heksahidrato ir ištirpinama 50 ml distiliuoto vandens. Gaunamas 20mM geležies (III) chlorido heksahidrato tirpalas.

**Darbinio FRAP reagento gamyba.** Paruošti reagentai sumaišomi santykiu 10:1:1 (10 dalių acetatinio buferio, 1 dalis TPTZ tirpalo ir 1 dalis geležies (III) chlorido heksahidrato tirpalo).

**Tiriamąojo tirpalo gamyba.** Imama 3 ml darbinio FRAP reagento ir pridedama 20 µl tiriamąojo ekstrakto. Mišinys laikomas tamsoje, kambario temperatūroje 1 valandą.

**Lyginamąojo tirpalo gamyba.** Imama 3 ml darbinio FRAP reagento ir pridedama 20 µl 70 proc. V/V etanolio.

Spektrofotometru išmatuojama mišinio absorbcija, esant 593 nm bangos ilgiui, ir lyginama su lyginamąoju tirpalu.

Redukcinio aktyvumo galia išreiškiama standartinio antioksidanto trolokso ekvivalentais (TE) gramui žaliavos. Apskaičiuojama pagal formulę:

$$TE_{FRAP} = \frac{C \times V}{m}$$

C – trolokso koncentracija (µmol/l), nustatyta iš kalibracinės kreivės,

V- ekstrakto tūris (L),

m – tikslus atvertas žaliavos kiekis (g).

**Darbinių trolokso tirpalų gamyba.** 0,025 g trolokso ištirpinama 25 ml kolbutėje 70 proc. V/V etanolyje. Iš gauto pradinio trolokso tirpalo ruošiami 5 skirtingų koncentracijų trolokso tirpalai (400 µmol/l, 800 µmol/l, 1200 µmol/l, 1600 µmol/l, 2000 µmol/l).

Į mėgintuvėlius su 3 ml FRAP darbinio tirpalo pridedama po 20 µl skirtingų koncentracijų trolokso darbinių tirpalų ir laikoma 1 valandą tamsoje, kambario temperatūroje. Matuojama absorbcija, esant 593 nm bangos ilgiui. Duomenys įvertinami pagal trolokso kalibracinio grafiko tiesinės regresijos lygtį –  $y = 0,0002x + 0,0898$ ;  $R^2 = 0,9839$ ;  $p < 0,05$ .

### 2.1.5. Efektyvioji skysčių chromatografija

ESC analizė atlikta naudojant „Waters 2695“ chromatografą (Milford, USA) su diodų matricos detektoriumi „Waters 2998“ (Milford, USA). Chromatografinis skirstymas atliktas naudojant 5-µm ACE C18 analitinę kolonėlę (250 × 4.6 mm) su prieškolone 5-µm ACE C18 (20 × 4.0 mm) (Aberdeen, Scotland), 25 °C temperatūroje. Eliuentų sistema: 1% (v/v) skruzdžių rūgšties (A) ir acetonitrilo (B). Eliucijos sistema: 10–15% tirpiklis B 0–20 min, 15% tirpiklis B 20–30 min, 15–30% tirpiklis B 30–45 min, 30–40% tirpiklis B 45–55 min. Judrios fazės tėkmės greitis 1 ml/min, injekcijos tūris - 10 µl. Fenoliniai junginiai identifikuoti pagal smailių sulaikymo trukmę ir UV spektrą ( $\lambda = 200\text{--}600$  nm) palyginant juos su žinomais standartais. Kiekybinis fenolinių junginių įvertinimas atliktas pagal standartų kalibracines kreives.

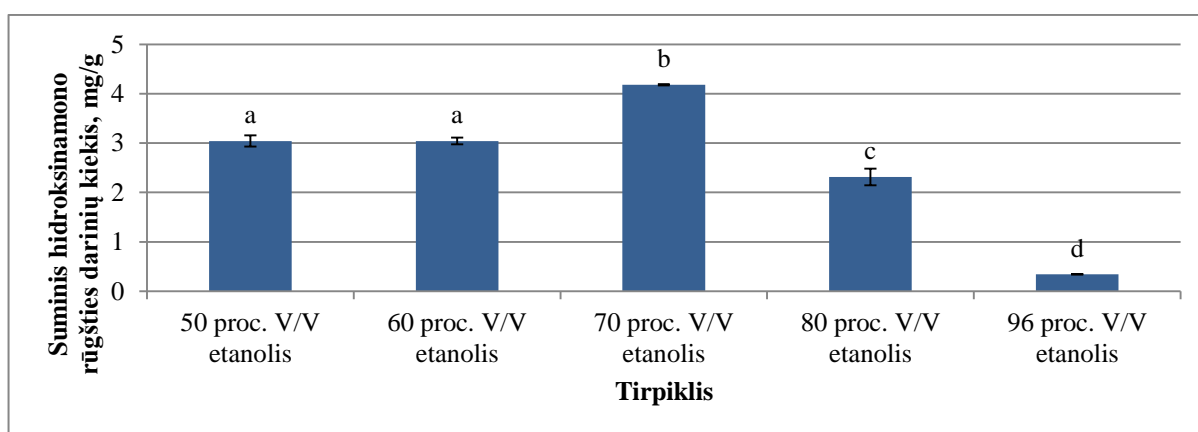
## 2.2. Duomenų apdorojimas ir statistinis vertinimas

Visi gauti duomenys apdoroti ir susisteminti naudojantis „MS Exel 2017“ (Microsoft, JAV) ir statistiniu paketu „SPSS 20“ (IBM, JAV). Visi tyrimai pakartoti po tris kartus, apskaičiuotas rezultatų standartinis nuokrypis ir santykinis standartinis nuokrypis. Ryšiui tarp kintamųjų nustatyti buvo naudojamas tiesinės regresijos modelis. Spirmeno koreliacijos koeficientu (Rs) buvo nustatyti koreliacinio ryšio stiprumai. Hierarchinės klasterinės analizės metodas buvo panaudotas Euklidiniu atstumu paremtų dendrogramų sudarymui. Rezultatų įvertinimui atlikta vienfaktorinė dispersinė analizė (ANOVA) taikant Tukey post-hoc kriterijų. Taikytas pasirinktas reikšmingumo lygmuo  $p = 0,05$ .

### 3. REZULTATAI IR JŲ APTARIMAS

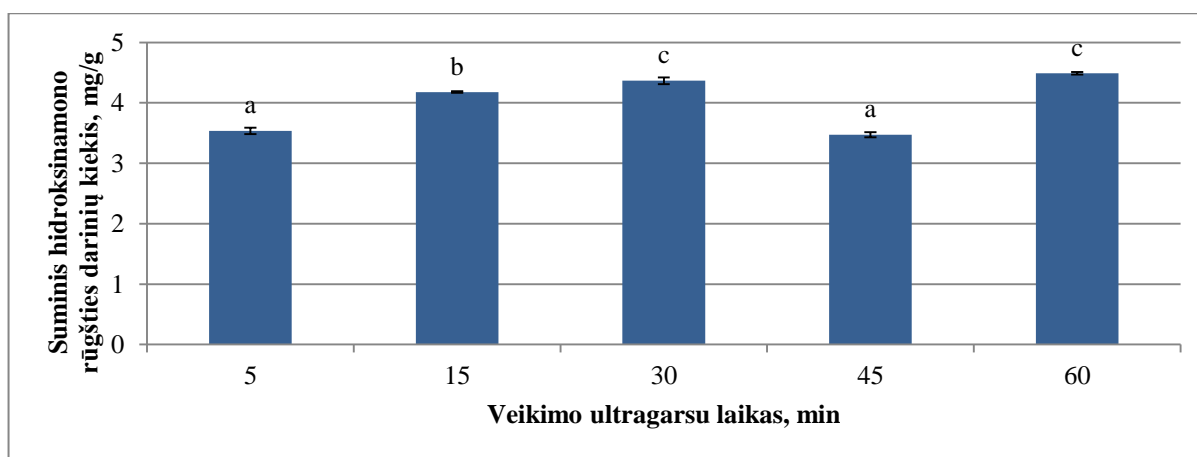
#### 3.1. Hidroksicinamono rūgšties darinių ekstrakcijos sąlygų paprastųjų trūkažolių žaliavoms parinkimas

**Ekstrakcijos tirpiklio koncentracijos parinkimas.** Ekstrakcijos veiksmingumas priklauso nuo naudojamų tirpiklių [68]. Svarbu pasirinkti tinkamo poliškumo tirpiklį, kuriame būtų tirpūs tiriamieji junginiai. Fenolinių junginių ekstrakcijai įprastai naudojami tirpikliai yra etanolis, etanolio-vandens mišiniai ir metanolis [68]. Didžiausias hidroksicinamono rūgšties darinių kiekis ( $4,18 \pm 0,02$  mg/g) nustatytas naudojant 70 proc. V/V etanolį ( $p < 0,05$ ) (6 pav). Mažiausiai hidroksicinamono darinių išekstrahuojama kaip tirpiklį naudojant 96 proc. V/V etanolį ( $0,34 \pm 0,01$  mg/g) ( $p < 0,05$ ). Kadangi didžiausia hidroksicinamono darinių išeiga nustatyta naudojant 70 proc. V/V etanolį, jis pasirinktas kaip tirpiklis tolesniems tyrimams. 70 proc. V/V etanolio naudojimas kaip efektyvus fenolinių junginių ekstrakcijai nurodomas ir moksliniuose tyrimuose [46,69].



6 pav. Suminio hidroksicinamono rūgšties darinių kiekis (mg/g) paprastųjų trūkažolių žolėje naudojant skirtingos koncentracijos vandens-etanolio mišinius; ( $n=3$ ), \*skirtingos raidės parodo statistiškai reikšmingus ( $p < 0,05$ ) skirtumus tarp ėminių

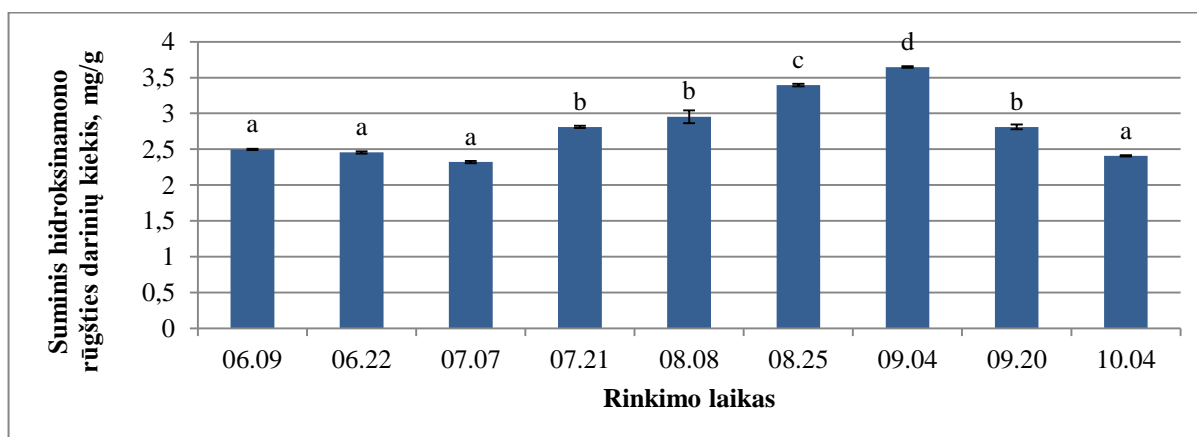
**Ekstrakcijos trukmės parinkimas.** Ekstrakcija vykdyta tirpikliu naudojant 70 proc. V/V etanolį. Pasirinkti 5 skirtingi laiko intervalai: 5, 15, 30, 45 ir 60 minučių. Didžiausi ( $p < 0,05$ ) hidroksicinamono rūgšties darinių kiekiai nustatyti, kai ekstrakcijos trukmė yra 30 ir 60 ekstrakcijos minučių (atitinkamai  $4,37 \pm 0,06$  mg/g ir  $4,49 \pm 0,02$  mg/g) (7 pav.). Nenustatytas reikšmingas skirtumas tarp 30 ir 60 minučių ekstrakcijos trukmės, todėl tolesniems tyrimams pasirinkta 30 minučių ekstrakcija. Ekstrakcijos laiko ilginimas nepadidina fenolinių junginių ekstrakcijos, nes ultragarso bangos, veikdamos ilgesnį laiką, gali suardyti fenolinius junginius, esančius žaliavoje [70].



7 pav. Suminio hidroksicinamono rūgšties darinių kiekis (mg/g) paprastųjų trūkažolių žolėje, esant skirtingam ekstrahavimo laikui; (n=3), \*skirtingos raidės parodo statistiškai reikšmingus ( $p<0,05$ ) skirtumus tarp ėminių

### 3.2. Suminio hidroksicinamono rūgšties darinių kiekio įvairavimas paprastųjų trūkažolių žaliavose

Suminio hidroksicinamono rūgšties darinių kiekio įvairavimas paprastųjų trūkažolių žolėje augalų vegetacijos metu. Suminis hidroksicinamono rūgšties darinių kiekis paprastųjų trūkažolių žolėje vegetacijos laikotarpyje kinta nuo  $2,32 \pm 0,02$  mg/g iki  $3,65 \pm 0,01$  mg/g ( $p<0,05$ ) (8 pav.). Vidutinis nustatytas junginių kiekis – 2,81 mg/g. Didžiausi junginių kiekiai nustatyti žydėjimo pabaigos metu – rugsėjo 4 d. ( $3,65 \pm 0,01$  mg/g). Mažiausias kiekis – žydėjimo pradžioje liepos 7 d. ( $2,32 \pm 0,02$  mg/g), tačiau jis reikšmingai nesiskiria nuo hidroksicinamono rūgšties darinių kiekio vegetacijos pradžioje ( $2,49 \pm 0,01$  mg/g), butonizacijos metu ( $2,45 \pm 0,02$  mg/g) ir vegetacijos pabaigoje ( $2,41 \pm 0,01$  mg/g).

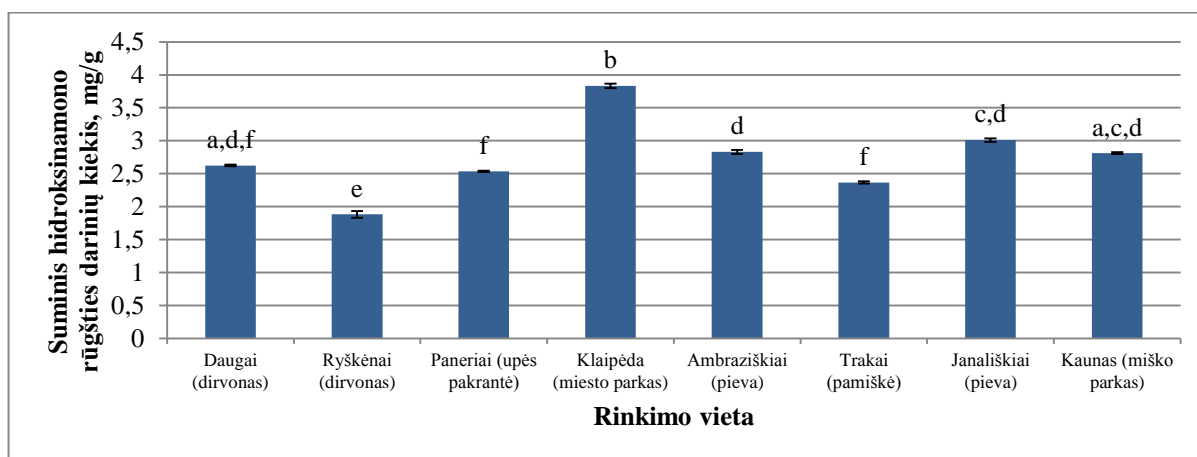


8 pav. Suminio hidroksicinamono rūgšties darinių kiekio (mg/g) įvairavimas paprastųjų trūkažolių žolėje vegetacijos metu; (n=3), \*skirtingos raidės parodo statistiškai reikšmingus ( $p<0,05$ ) skirtumus tarp ėminių



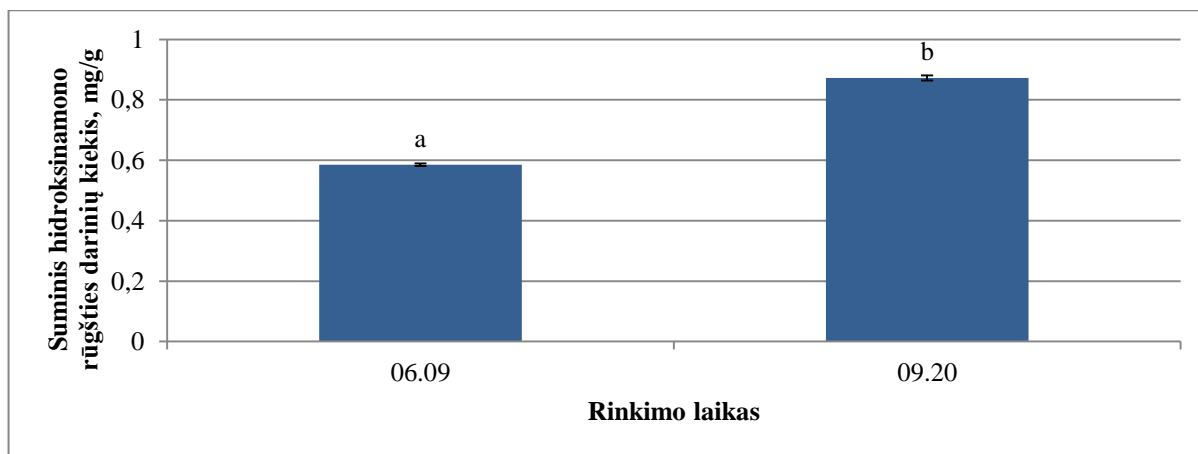
Atliktos statistinės analizės (ANOVA) metu nustatytas reikšmingas hidroksicinamono rūgšties darinių kiekio didėjimas nuo žydėjimo pradžios liepos 7 d. iki masinio žydėjimo pabaigos rugsėjo 4 d ( $p < 0,05$ ). Nustatyta, vegetacijos pabaigos metu sukauptas hidroksicinamono rūgšties darinių kiekis neturi statistiškai reikšmingo skirtumo nuo kiekio, sukaupto vegetacijos pradžioje.

**Suminio hidroksicinamono rūgšties darinių kiekio įvairavimas paprastųjų trūkažolių žolėje skirtingose augavietėse.** Įvertintas sukauptamų junginių kiekis skirtinguose regionuose. Žolės rinkimui pasirinktas masinio žydėjimo laikotarpis, kada nustatytas ženklus hidroksicinamono rūgšties darinių kiekio padidėjimas. Nustatyta, kad suminis hidroksicinamono rūgšties darinių kiekis paprastųjų trūkažolių žolėje įvairuoja nuo  $1,88 \pm 0,05$  mg/g iki  $3,83 \pm 0,03$  mg/g. Vidurkis – 2,74 mg/g. Didžiausias junginių kiekis ( $p < 0,05$ ) nustatytas Klaipėdos miesto Draugystės parke surinktos žaliavos ėminiuose ( $3,83 \pm 0,03$  mg/g), mažiausias - Telšių rajone, Ryškėnų kaime rinktos žaliavos ėminiuose ( $1,88 \pm 0,05$  mg/g). Vidurkį siekia tik keturiose augavietėse rinkta žolė: Klaipėdos mieste ( $3,83 \pm 0,03$  mg/g), Molėtų raj., Ambraziškiuose ( $2,83 \pm 0,03$  mg/g), Panevėžio raj., Janališkiuose ( $3,01 \pm 0,03$  mg/g) ir Kaune ( $2,81 \pm 0,02$  mg/g) (9 pav).



9 pav. Suminio hidroksicinamono rūgšties darinių kiekio (mg/g) įvairavimas paprastųjų trūkažolių žolėje skirtingose augavietėse;  $n=3$ , \*skirtingos raidės parodo statistiškai reikšmingus ( $p < 0,05$ ) skirtumus tarp ėminių

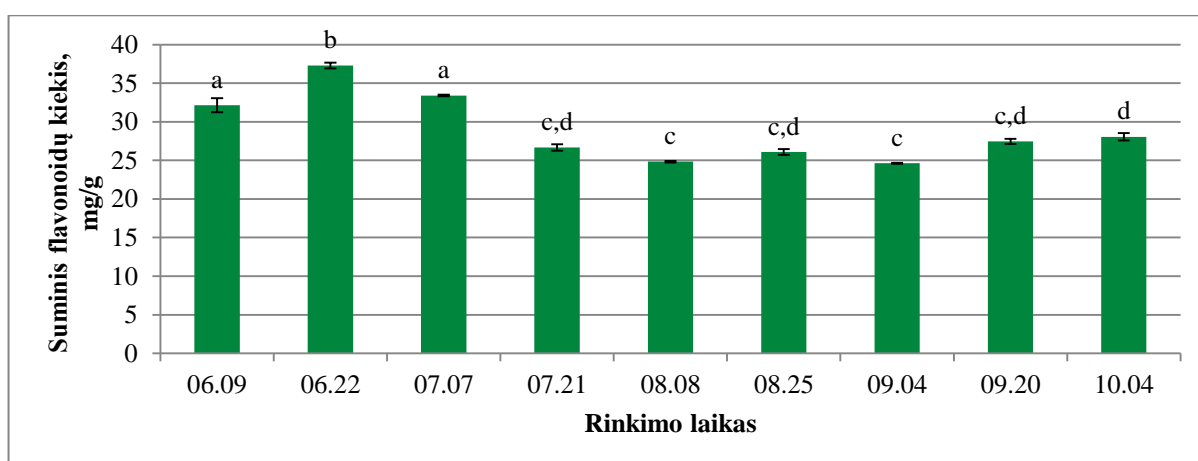
**Suminio hidroksicinamono rūgšties darinių kiekio įvairavimas paprastųjų trūkažolių šaknyse augalų vegetacijos metu.** Paprastųjų trūkažolių šaknys rinktos Kauno mieste (Klebonišio miško parke) dviejų vegetacijos laikotarpių metu – pačioje vegetacijos pradžioje ir bręstant sėkloms. Nustatyta, kad didesnis ( $p < 0,05$ ) kiekis junginių randamas sėklų brandos metu (rugsėjo 20 d.) –  $0,87 \pm 0,01$  mg/g, nei vegetacijos pradžioje (birželio 9 d.) –  $0,59 \pm 0,004$  mg/g ( $p < 0,05$ ) (10 pav.) Nustatytas vidutinis trūkažolių šaknų hidroksicinamatų kiekis yra 0,73 mg/g.



10 pav. Suminio hidroksicinamono rūgšties darinių kiekio (mg/g) įvairavimas paprastųjų trūkažolių šaknyse vegetacijos metu;  $n=3$ , \*skirtingos raidės parodo statistiškai reikšmingus ( $p<0,05$ ) skirtumus tarp ėminių

### 3.3. Suminio flavonoidų kiekio įvairavimas paprastųjų trūkažolių žaliavose

Suminio flavonoidų kiekio įvairavimas paprastųjų trūkažolių žolėje vegetacijos metu. Nustatyta, kad suminis flavonoidų kiekis paprastųjų trūkažolių žolėje vegetacijos metu įvairuoja nuo  $24,63 \pm 0,05$  mg/g iki  $37,30 \pm 0,38$  mg/g ( $p<0,05$ ). Vidutinis kiekis – 28,95 mg/g. Didžiausias sukauptas flavonoidų kiekis butonizacijos metu (birželio 22 d.) –  $37,30 \pm 0,38$  mg/g ( $p<0,05$ ). Mažiausias ( $24,63 \pm 0,05$  mg/g) kiekis nustatytas masinio žydėjimo pabaigoje (rugsėjo 4 d.) ( $p<0,05$ ) (11 pav.). Didesnį nei vidutinį flavonoidų kiekį sukauptė tik vegetacijos pradžioje (birželio 9 d. –  $32,15 \pm 0,22$  mg/g), butonizacijos metu (birželio 22 d. –  $37,30 \pm 0,38$  mg/g) ir žydėjimo pradžios metu (liepos 7 d. –  $33,40 \pm 0,11$  mg/g) rinktos žaliavos ( $p<0,05$ ).



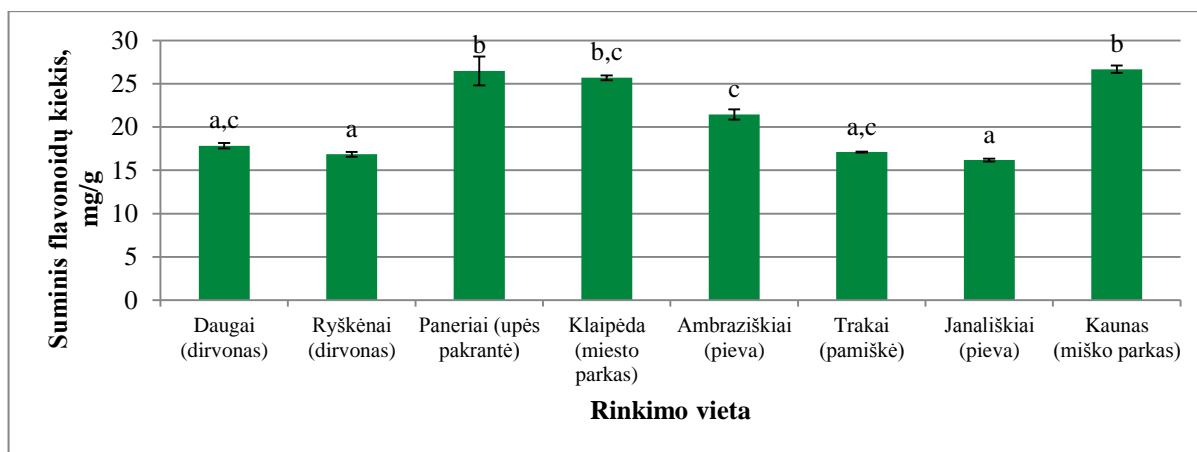
11 pav. Suminio flavonoidų kiekio (mg/g) įvairavimas paprastųjų trūkažolių žolėje vegetacijos metu;  $n=3$ , \*skirtingos raidės parodo statistiškai reikšmingus ( $p<0,05$ ) skirtumus tarp ėminių.

Atliktos statistinės analizės (ANOVA) metu nustatytas reikšmingas ( $p < 0,05$ ) flavonoidų kiekio padidėjimas nuo  $32,15 \pm 0,22$  mg/g birželio 9 d. iki  $37,30 \pm 0,38$  mg/g birželio 22 d. Nustatytas reikšmingas skirtumas tarp didžiausios ir mažiausios bendro flavonoidų kiekio reikšmės. Flavonoidų kiekiai kitais rinkimo laikais reikšmingai nesiskiria.

2015 metais atlikto Abbas et al., tyrimo [71] duomenimis metanoliniame paprastųjų trūkažolių lapų ekstrakte suminis flavonoidų kiekis nustatytas 6,82 mg/g (pagal rutino kreivę). Vidutinis kiekis mūsų atlikto tyrimo duomenimis yra didesnis 4,24 karto ir siekia 28,95 mg/g.

Montefusco et al., atlikti tyrimai (2015 m.) Italijos regione su skirtingomis *Cichorium intybus* rūšimis nustatė, kad flavonoidų kiekis skirtingose rūšyse svyravo nuo 30,1 mg/g iki 101,7 mg/g (pagal galo rūgšties kreivę) [2], tai ženkliai didesni kiekiai nei gauti mūsų tyrimo metu.

**Suminio flavonoidų kiekio įvairavimas paprastųjų trūkažolių žolėje skirtingose augavietėse.** Suminis flavonoidų kiekis paprastųjų trūkažolių žolėje skirtinguose regionuose įvairuoja nuo  $16,85 \pm 0,27$  mg/g iki  $26,68 \pm 0,43$  mg/g. Vidurkis 21,04 mg/g. Didžiausias flavonoidų kiekis nustatytas Kaune –  $26,68 \pm 0,43$  mg/g, šiek tiek mažesnis – Vilniaus raj. (Paneriuose) –  $26,48 \pm 1,67$  mg/g. Mažiausias flavonoidų kiekis nustatytas Trakuose –  $17,11 \pm 0,05$  mg/g ir Telšių raj., Ryškėnų km. –  $16,84 \pm 0,27$  mg/g. Vidurkį siekiančios reikšmės nustatytos tik Vilniaus raj., Klaipėdos m., Molėtų raj. ( $21,46 \pm 0,59$  mg/g) ir Kaune (12 pav.).

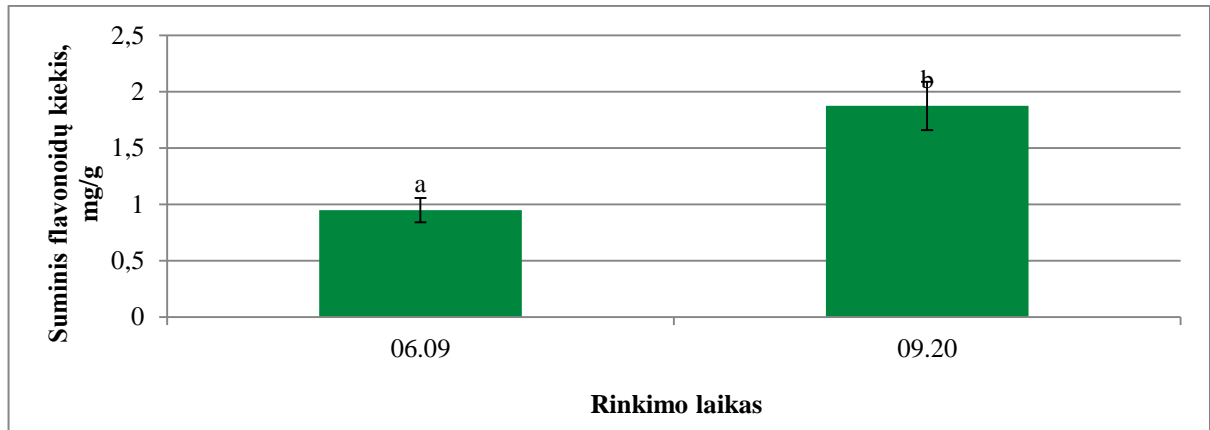


**12 pav. Suminio flavonoidų kiekio (mg/g) įvairavimas paprastųjų trūkažolių žolėje skirtingose augavietėse;  $n=3$ , \*skirtingos raidės parodo statistiškai reikšmingus ( $p < 0,05$ ) skirtumus tarp ėminių**

**Suminio flavonoidų kiekio įvairavimas paprastųjų trūkažolių šaknyse vegetacijos metu.** Nustatyta, kad paprastųjų trūkažolių šaknys beveik 2 kartus didesnę flavonoidų kiekį kaupia sėklų brandinimo metu, nei vegetacijos pradžioje. Rugsėjo 20 d. suminis flavonoidų kiekis –  $1,87 \pm 0,22$  mg/g, o birželio 9 d. –  $0,95 \pm 0,11$  mg/g ( $p < 0,05$ ) (13 pav.).

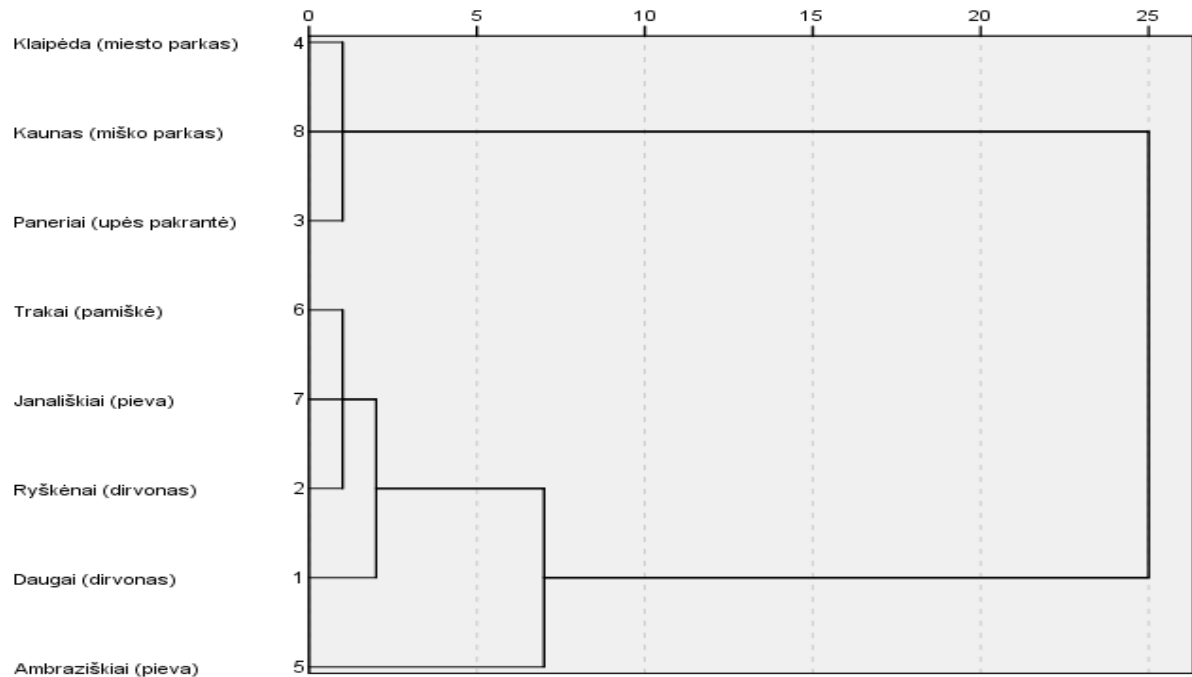
Mūsų tyrimo metu nustatyta, kad pavasarį sukaupiama mažiau biologiškai aktyvių junginių nei rudenį. Tai patvirtina 2014 metais Bulgarijoje atliktas tyrimas, kurio metu nustatyta, kad gegužę

rinktų šaknų 95 proc. V/V etanoliniuose ekstraktuose sukaupia vidutiniškai  $0,6 \pm 0,1$  mg/g flavonoidų, o rinktų lapkritį –  $1,0 \pm 0,1$  mg/g [4].



**13 pav. Suminio flavonoidų kiekio (mg/g) įvairavimas paprastųjų trūkažolių šaknyse vegetacijos metu, n=3, \*skirtingos raidės parodo statistiškai reikšmingus ( $p < 0,05$ ) skirtumus tarp ėminių**

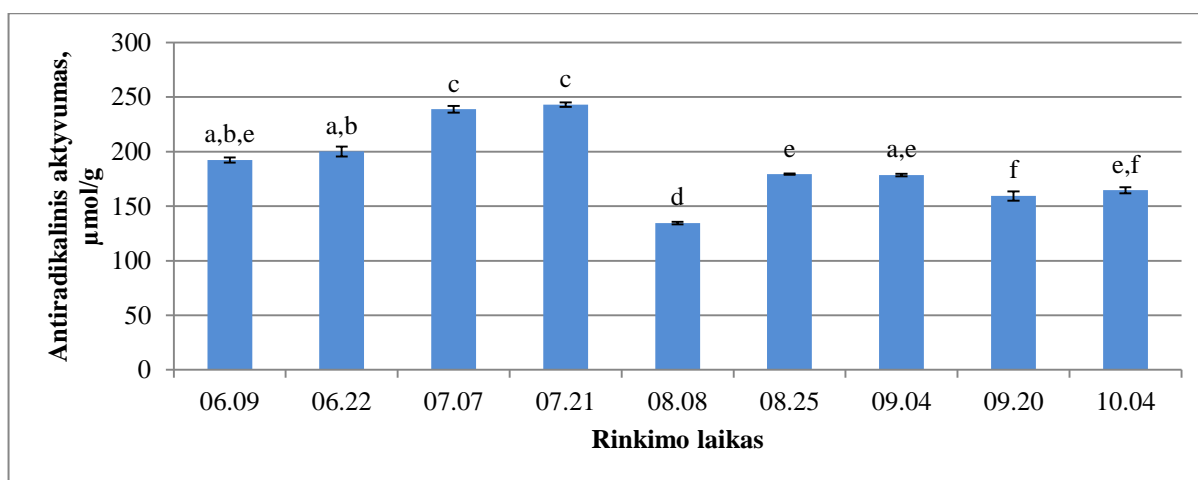
**Suminio hidroksicinamono rūgšties darinių ir flavonoidų kiekio paprastųjų trūkažolių žolėje pasiskirstymo pagal augavietes hierarchinės klesterinės analizės dendrograma.** Sudaryta paprastųjų trūkažolių žolės suminio hidroksicinamono rūgšties darinių ir flavonoidų kiekio pasiskirstymo pagal augavietes hierarchinės klesterinės analizės dendrograma (14 pav.). Dendrogramoje galima išskirti dvi pagrindines grupes. Pirmajai grupei priklauso žolė, rinkta Molėtų raj. Ambraziškėse, Alytaus raj. Danguose, Telšių raj. Ryškėnų kaime, Panevėžio raj. Janališkiuose, Trakuose. Pirmajai grupei priskirtos mažesnį veikliųjų junginių kiekį sukaupusios žaliavos. Pirmoji grupė padalinta į du pogrupius. Pirmajam pogrupiui, kuriame nustatyta didesnis kiekis junginių, priklauso žolė, rinkta Molėtų raj., o antrajam Alytaus raj., Telšių raj., Panevėžio raj., Trakuose rinktos žolės. Antrajai grupei priklauso paprastųjų trūkažolių žolė, kuri buvo rinkta Vilniaus raj., Kaune ir Klaipėdoje. Tai daugiausia junginių sukaupusi grupė.



**14 pav. Suminio hidroksicinamatų ir flavonoidų kiekio paprastųjų trūkažolių žolėje pasiskirstymo pagal augavietes hierarchinės klesterinės analizės dendrograma**

### **3.4. Antiradikalinio aktyvumo nustatymas ABTS metodu paprastųjų trūkažolių žaliavose**

**Antiradikalinio aktyvumo nustatymas ABTS metodu paprastųjų trūkažolių žolėje vegetacijos metu.** Nustatyta, kad paprastųjų trūkažolių antiradikalinis aktyvumas vegetacijos metu reikšmingai ( $p < 0,05$ ) svyruoja nuo  $134,55 \pm 1,22 \mu\text{mol/g}$  iki  $243,05 \pm 2,04 \mu\text{mol/g}$ . Vidutinis antiradikalinis aktyvumas –  $187,83 \mu\text{mol/g}$ . Didžiausias ( $p < 0,05$ ) reikšmes antiradikalinis aktyvumas pasiekia žydėjimo pradžios metu – liepos 7 d. ( $238,8 \pm 3,06 \mu\text{mol/g}$ ) ir masinio žydėjimo metu liepos 21 d. ( $243,05 \pm 2,04 \mu\text{mol/g}$ ) (15 pav.). Pastebimas aktyvumo sumažėjimas rugpjūčio 8 d. ( $134,55 \pm 1,22 \mu\text{mol/g}$ ). Masinio žydėjimo metu – rugpjūčio 8 d. antiradikalinis aktyvumas pasiekia mažiausią reikšmę visos vegetacijos metu, vėlesniais vegetacijos laikotarpiais antiradikalinis aktyvumas padidėja, tačiau nepasiekia vidutinės aktyvumo reikšmės.

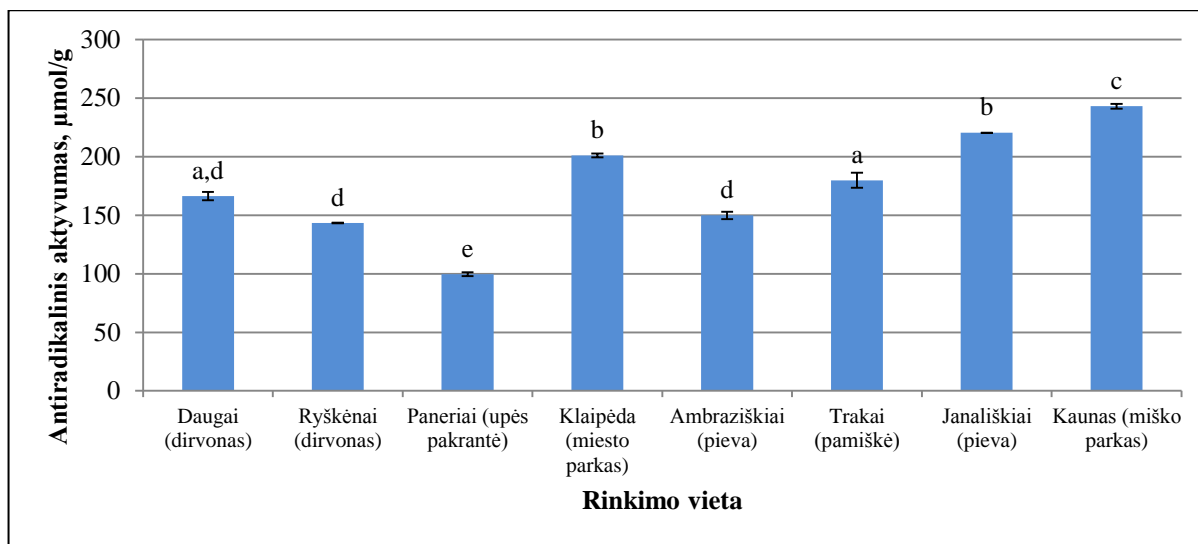


15 pav. Antiradikalinio aktyvumo ( $\mu\text{mol/g}$ ) įvairavimas paprastųjų trūkažolių žolėje vegetacijos metu;  $n=3$ , \*skirtingos raidės parodo statistiškai reikšmingus ( $p<0,05$ ) skirtumus tarp ėminių

Atliktos statistinės analizės metu nustatytas statistiškai reikšmingas skirtumas tarp mažiausios ir didžiausių antiradikalinio aktyvumo reikšmių ( $p<0,05$ ). Nustatytas reikšmingas antiradikalinio aktyvumo sumažėjimas masinio žydėjimo metu rugpjūčio 8 d., kurį galime sieti su mažu flavonoidų kiekiu, sukauptu rugpjūčio 8 d. rinktoje žaliavoje.

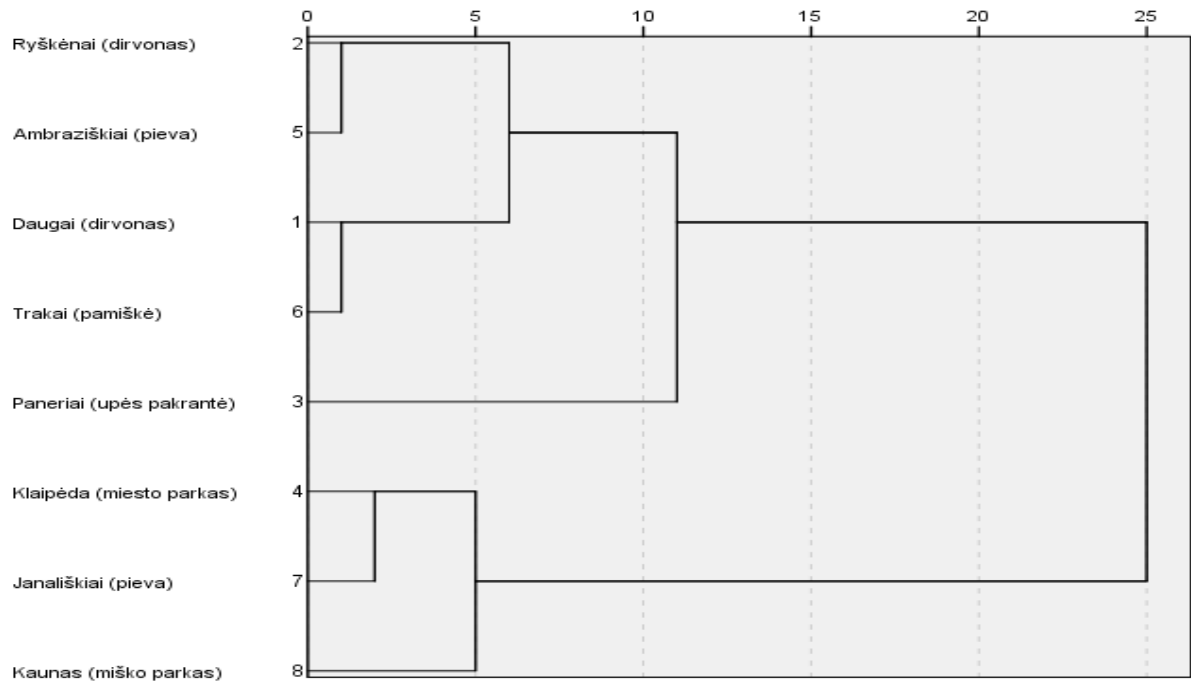
2012 metais Brazilijoje atlikto tyrimo duomenimis nustatytas vidutinis antiradikalinis aktyvumas ABTS metodu buvo  $54,9 \pm 4,53 \mu\text{mol/g}$  [72]. Mūsų atlikto tyrimo metu vidutinis antiradikalinis aktyvumas buvo  $187,83 \mu\text{mol/g}$ . Tai parodo, kad antiradikaliniame aktyvume įtakos gali turėti klimatas, geografinė padėtis, dirvožemis ir kitos sąlygos.

**Antiradikalinio aktyvumo nustatymas ABTS metodu paprastųjų trūkažolių žolėje skirtingose augavietėse.** Antiradikalinis aktyvumas skirtingose rinkimo vietose įvairuoja nuo  $99,55 \pm 1,63 \mu\text{mol/g}$  iki  $243,05 \pm 2,04 \mu\text{mol/g}$ . Vidutiniška antiradikalinio aktyvumo reikšmė –  $175,39 \mu\text{mol/g}$ . Didžiausias ( $p<0,05$ ) antiradikalinis aktyvumas nustatytas Kaune ( $243,05 \pm 2,04 \mu\text{mol/g}$ ) ir Panevėžio raj. Janališkiuose ( $220,30 \pm 0,20 \mu\text{mol/g}$ ), mažiausias ( $p<0,05$ ) Vilniaus raj. Paneriuose ( $99,55 \pm 1,63 \mu\text{mol/g}$ ) (16 pav.). Tik keturiose rinkimo vietose rinkta žaliava pasižymi didesniu nei vidutiniu antiradikaliniu veikimu (Klaipėdos m., Trakų m., Panevėžio raj., Kauno m.).



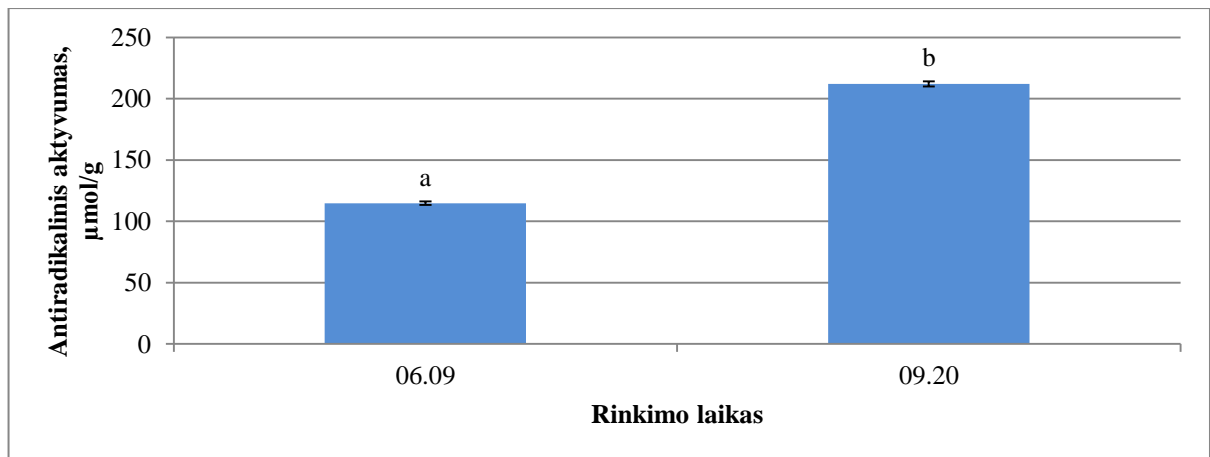
**16 pav. Antiradikalinio aktyvumo ( $\mu\text{mol/g}$ ) įvairavimas paprastųjų trūkažolių žolėje skirtingose augavietėse;  $n=3$ , \*skirtingos raidės parodo statistiškai reikšmingus ( $p<0,05$ ) skirtumus tarp ėminių**

Sudaryta paprastųjų trūkažolių žolės hierarchinės klesterinės analizės dendrograma antiradikalinio aktyvumo pasiskirstymui pagal augavietes (17 pav.). Pirmajai grupei priklauso didžiausiu antiradikaliniu aktyvumu pasižyminčios žaliavos, surinktos Kaune, Panevėžio raj. Janališkiuose, ir Klaipėdoje. Pirmoji grupė padalinta į du pogrupius. Pirmajam pogrupiui priklauso didžiausiu antiradikaliniu aktyvumu pasižyminti žolė, rinkta Kaune, antrajam priklauso žolės, rinktos Panevėžio raj. ir Klaipėdoje, kuriose nustatytas mažesnis antiradikalinis aktyvumas. Antrajai grupei priklauso Vilniaus raj. Paneriuose, Trakuose, Alytaus raj. Dauguose, Molėtų raj. Ambraziškiuose ir Telšių raj. Ryškėnų kaime rinktos paprastųjų trūkažolių žolės. Antroji grupė taip pat padalinta į du pogrupius. Pirmajam priklauso Vilniaus rajone surinkta žolė, pasižyminti mažiausiu antiradikaliniu aktyvumu. Antrajam pogrupiui priklauso Trakuose, Alytaus raj., Molėtų raj. ir Telšių raj. rinktos žaliavos, kurios nors ir pasižymėjo didesniu nei Vilniaus raj. rinktų žaliavų antiradikaliniu aktyvumu, tačiau ne tokiu dideliu, kad patektų į pirmą grupę.



17 pav. Antiradikalinio aktyvumo paprastųjų trūkažolių žolėje pasiskirstymo pagal augavietes hierarchinės klasterinės analizės dendrograma

**Antiradikalinio aktyvumo nustatymas ABTS metodu paprastųjų trūkažolių šaknyse vegetacijos metu.** Nustatyta, kad paprastųjų trūkažolių šaknų antiradikalinis aktyvumas didesnis sėklų brandos metu nei vegetacijos pradžioje. Vegetacijos pradžioje (birželio 9 d.) aktyvumas  $114,80 \pm 1,43 \mu\text{mol/g}$ , o sėklų brandos metu (rugsėjo 20 d.) –  $212,05 \pm 2,04 \mu\text{mol/g}$  (18 pav.). Antiradikalinis aktyvumas tiesiogiai koreliuoja su sukauptu hidroksicinamono rūgšties darinių ir flavonoidų kiekiu ( $R_s - 0,999$ ,  $p < 0,01$ ).

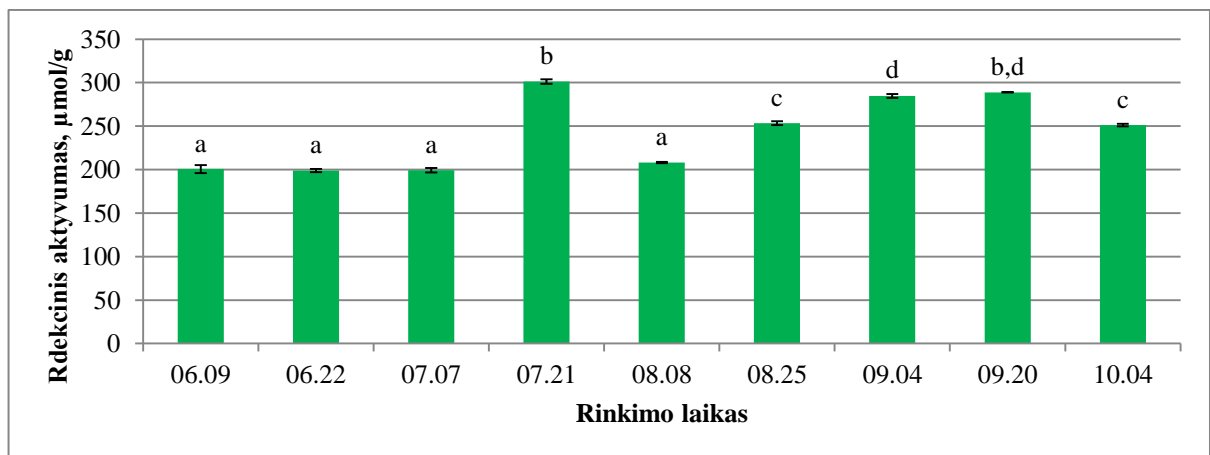


18 pav. Antiradikalinio aktyvumo ( $\mu\text{mol/g}$ ) įvairavimas paprastųjų trūkažolių šaknyse vegetacijos metu;  $n=3$ , \*skirtingos raidės parodo statistškai reikšmingus ( $p < 0,05$ ) skirtumus tarp ėminių



### 3.5. Redukcinio aktyvumo nustatymas FRAP metodu paprastųjų trūkažolių žaliavose

**Redukcinio aktyvumo nustatymas FRAP metodu paprastųjų trūkažolių žolėje vegetacijos metu.** Redukcinis aktyvumas paprastųjų trūkažolių žolėje vegetacijos periodu varijuoja nuo  $198,85 \pm 1,83 \mu\text{mol/g}$  iki  $301,35 \pm 2,65 \mu\text{mol/g}$ . Vidutinė redukcinio aktyvumo reikšmė –  $242,96 \mu\text{mol/g}$ . Didžiausia ( $p < 0,05$ ) aktyvumo reikšmė nustatyta masinio žydėjimo metu – liepos 21 d ir siekia  $301,35 \pm 2,65 \mu\text{mol/g}$ . Šiek tiek mažesnės reikšmės nustatytos masinio žydėjimo pabaigoje ir sėklų brandos metu – rugsėjo 4 d. ir 20 d. (atitinkamai  $284,85 \pm 2,24 \mu\text{mol/g}$  ir  $288,85 \pm 0,20 \mu\text{mol/g}$ ) (19 pav.). Mažiausios ( $p < 0,05$ ) reikšmės, kurios nesiekia vidutinio redukcinio aktyvumo reikšmės, nustatytos vegetacijos pradžioje (birželio 9 d.  $200,60 \pm 4,49 \mu\text{mol/g}$ ), butonizacijos (birželio 22 d.  $198,85 \pm 1,84 \mu\text{mol/g}$ ) ir žydėjimo pradžios metu (liepos 7 d.  $199,35 \pm 2,65 \mu\text{mol/g}$ ). Redukcinio aktyvumo reikšmės maksimumą pasiekia masinio žydėjimo metu (liepos 21 d.), tada sumažėja (rugspjūčio 8 d.) ir vėl padidėja ir laikosi iki didesnės nei vidutinės reikšmės iki pat vegetacijos pabaigos.

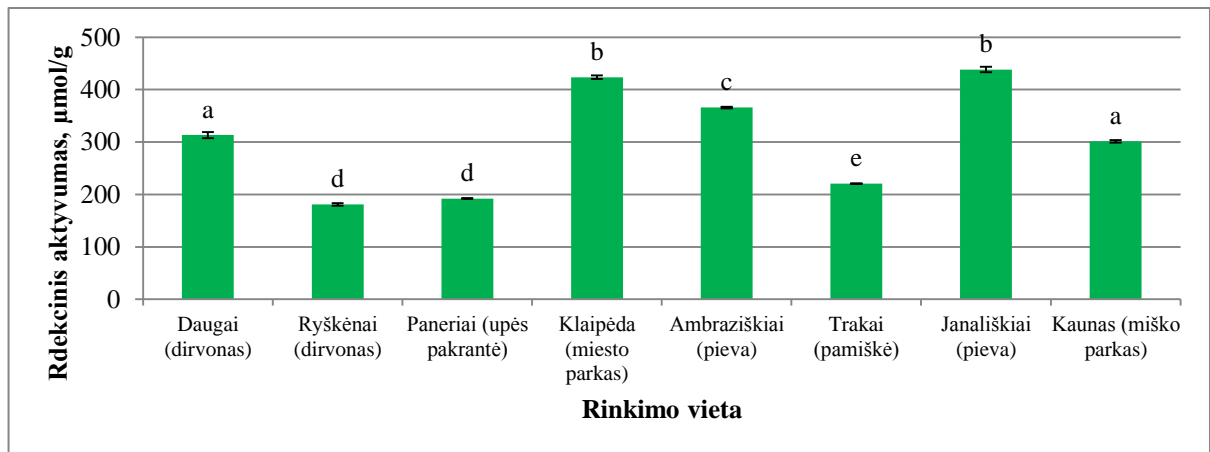


**19 pav. Redukcinio aktyvumo ( $\mu\text{mol/g}$ ) įvairavimas paprastųjų trūkažolių žolėje vegetacijos metu;  $n=3$ , \*skirtingos raidės parodo statistiškai reikšmingus ( $p < 0,05$ ) skirtumus tarp ėminių**

Statistinės analizės metu nustatyta, kad nėra reikšmingo skirtumo tarp keturių panašių reikšmių birželio 9 d., 22 d., liepos 7 d. ir rugspjūčio 8 d. Nustatytas reikšmingas ( $p < 0,05$ ) skirtumas tarp didžiausios reikšmės liepos 21 d. ir mažiausių reikšmių birželio 9 d., birželio 22 d., liepos 7 d. ir rugspjūčio 8 d. Tarp kitų rinkimo datų reikšmingo redukcinio aktyvumo reikšmių skirtumų nepastebėta.

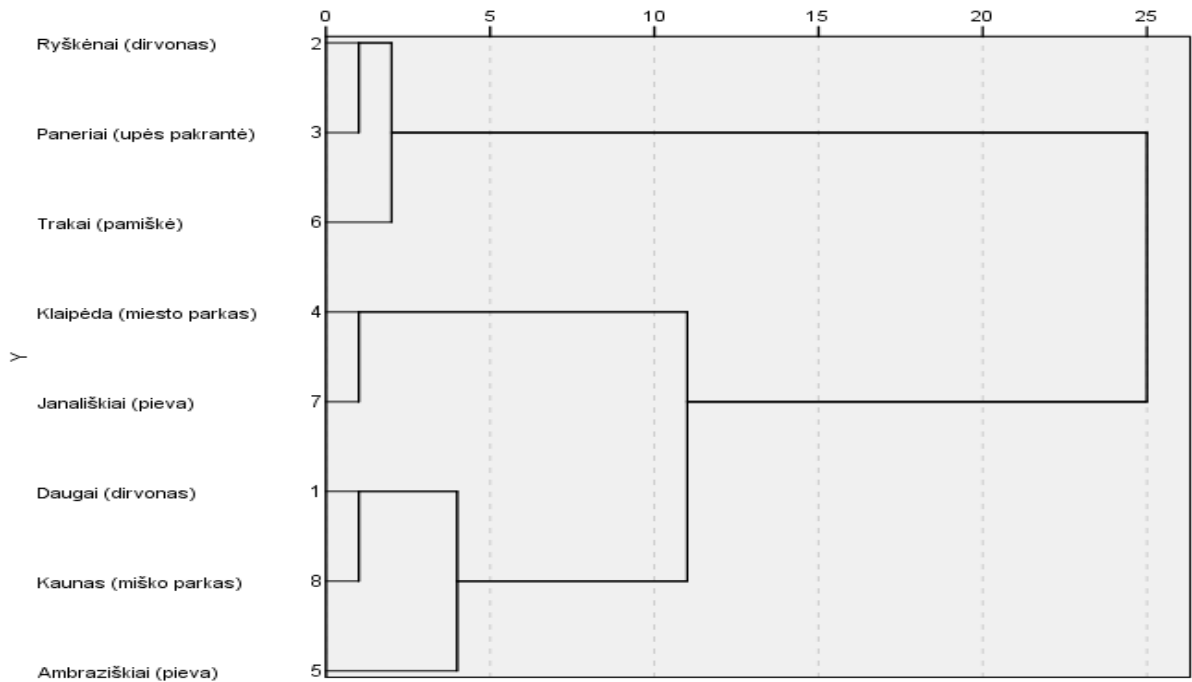
Brazilijoje 2012 metais atlikto tyrimo duomenimis nustatytas vidutinis paprastųjų trūkažolių redukcinis aktyvumas FRAP metodu –  $217,2 \pm 6,85 \mu\text{mol/g}$  [72]. Mūsų atlikto tyrimo metu gautos panašios reikšmės. Nustatyta vidutinė redukcinio aktyvumo reikšmė –  $242,96 \mu\text{mol/g}$ .

**Redukcinio aktyvumo nustatymas FRAP metodu paprastųjų trūkažolių žolėje skirtingose augavietėse.** Redukcinis aktyvumas skirtingose augimo vietose įvairuoja nuo  $181,10 \pm 2,45$   $\mu\text{mol/g}$  iki  $438,35 \pm 5,10$   $\mu\text{mol/g}$ . Vidutinė redukcinio aktyvumo reikšmė yra  $304,57$   $\mu\text{mol/g}$ . Didžiausia redukcinio aktyvumo reikšmė nustatyta Panevėžio raj., Janališkiuose ir siekia  $438 \pm 5,10$   $\mu\text{mol/g}$ . Šiek tiek mažesnė reikšmė nustatyta Klaipėdoje ( $423,60 \pm 3,27$   $\mu\text{mol/g}$ ) ir Molėtų raj. Ambraziškiuose ( $365,85 \pm 1,43$   $\mu\text{mol/g}$ ). Mažiausias redukcinis aktyvumas masinio žydėjimo metu nustatytas Telšių raj. ( $181,10 \pm 2,45$   $\mu\text{mol/g}$ ) ir Vilniaus raj. ( $192,1 \pm 0,41$   $\mu\text{mol/g}$ ) (20 pav.).



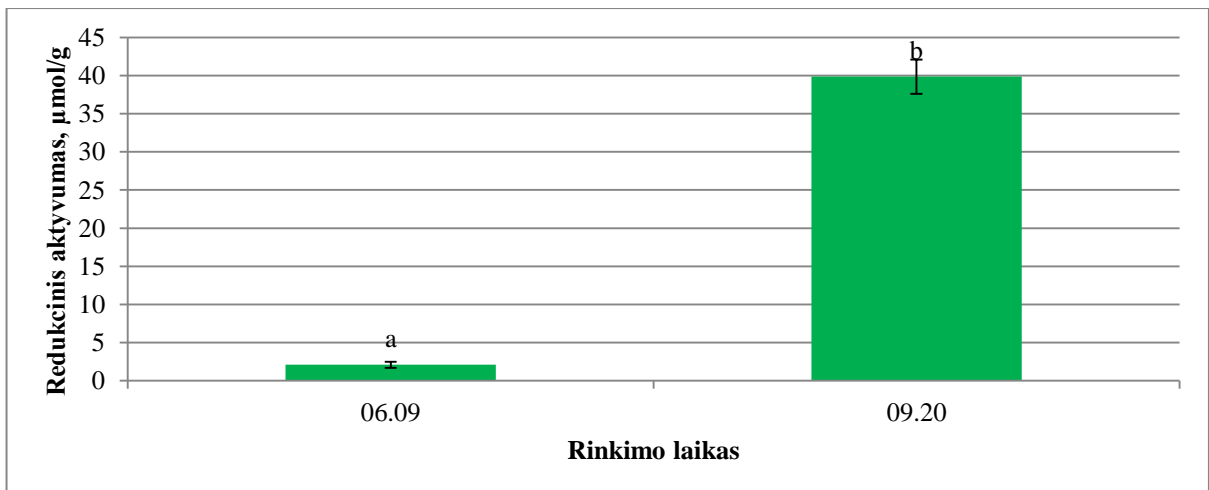
**20 pav. Redukcinio aktyvumo ( $\mu\text{mol/g}$ ) įvairavimas paprastųjų trūkažolių žolėje skirtingose augavietėse;  $n=3$ , \*skirtingos raidės parodo statistiškai reikšmingus ( $p<0,05$ ) skirtumus tarp ėminių**

21 pav. pavaizduota paprastųjų trūkažolių redukcinio aktyvumo pasiskirstymo pagal augavietes dendrograma. Išskiriamos dvi pagrindinės grupės. Pirmojoje grupėje nustatytas didesnis redukcinis aktyvumas. Jis nustatytas Molėtų raj. Ambraziškiuose, Kaune, Alytaus raj. Dauguose, Panevėžio raj. Janališkiuose ir Klaipėdos mieste. Pirmoji grupė padalinta į du pogrupius, pirmajam priklauso žolės, rinktos Molėtų raj., Kaune, Alytaus raj. Jose nustatytas mažesnis redukcinis aktyvumas, nei rinktos antrajam pogrupiui priklausančiose vietovėse (Klaipėdos m. ir Panevėžio raj.). Antrajai grupei, kurioje nustatytas mažesnis redukcinis aktyvumas, priklauso Trakai, Vilniaus raj. Paneriai ir Telšių raj. Ryškėnų km. Antroji grupė taip pat padalinta į du pogrupius, pirmajam iš jų priklauso didesniu redukciniu aktyvumu pasižymėjusi žaliava, rinkta Trakuose. Antrajam pogrupiui priskiriamas Vilniaus raj. ir Telšių raj.



21 pav. Redukcinio aktyvumo paprastųjų trūkažolių žolėje pasiskirstymo pagal augavietes hierarchinės klasterinės analizės dendrograma

**Redukcinio aktyvumo nustatymas FRAP metodu paprastųjų trūkažolių šaknyse vegetacijos metu.** Nustatyta, kad redukcinio aktyvumo reikšmė paprastųjų trūkažolių šaknyse yra didesnė sėklų brandos metu nei vegetacijos pradžioje. Sėklų brandos metu nustatytas didesnis hidroksicinamono rūgščių ir flavonoidų kiekis, kuris lemia didesnę redukcinių aktyvumą sėklų bandos metu. Atitinkamai redukcinio aktyvumo reikšmė rugsėjo 20 d. –  $39,85 \pm 2,25 \mu\text{mol/g}$ , o birželio 9 d. –  $2,1 \pm 0,40 \mu\text{mol/g}$  (22 pav.).



22 pav. Redukcinio aktyvumo ( $\mu\text{mol/g}$ ) įvairavimas paprastųjų trūkažolių šaknyse vegetacijos metu;  $n=3$ , \*skirtingos raidės parodo statistiškai reikšmingus ( $p<0,05$ ) skirtumus tarp ėminių

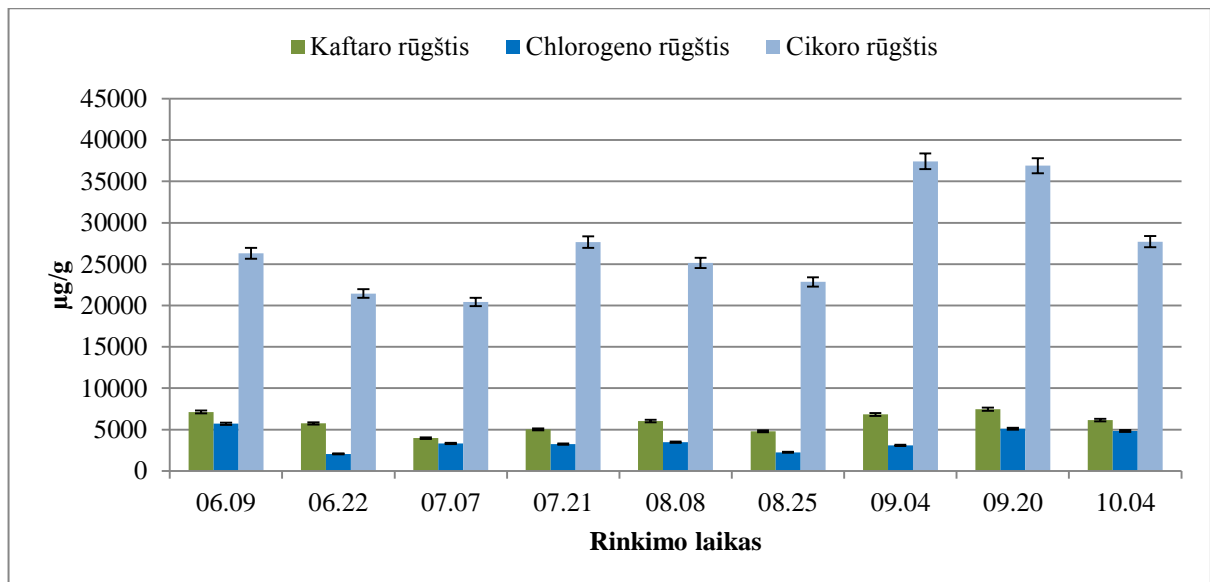
### 3.6. Paprastųjų trūkažolių žaliavų analizė ESC metodu

Spektrofotometriniais metodais įvertinamas suminis junginių kiekis augalinėse žaliavose, todėl pritaikytas efektyviosios skysčių chromatografijos metodas, kurio metu buvo ištirti atskiri junginių kiekiai paprastųjų trūkažolių žolės ir šaknų ekstraktuose. ESC metodu žaliavose buvo identifikuoti šie junginiai: hidroksicinamono rūgšties dariniai (kavos, kaftaro, cikoro, chlorogeno rūgštis), flavonoidai (astragalinas, izoramnetino-3-rutinozidas, luteolino-4-glikozidas). ESC metodu nustatyta, kad paprastųjų trūkažolių žaliavose sukaupiama daugiausia hidroksicinamono rūgšties (kavos, kaftaro, cikoro, chlorogeno) darinių.

**Identifikuotų hidroksicinamono rūgšties darinių kiekio įvairavimo nustatymas paprastųjų trūkažolių žolės ekstraktuose vegetacijos metu.** Nustatyta, kad vyraujantis junginys paprastųjų trūkažolių žolėje yra cikoro rūgštis. Cikoro rūgšties koncentracija vegetacijos laikotarpiu kinta nuo  $20415,16 \pm 510,38 \mu\text{g/g}$  iki  $37430,12 \pm 935,75 \mu\text{g/g}$ . Vidutinis kiekis  $27318,59 \mu\text{g/g}$ . Didžiausi kiekiai nustatyti žydėjimo pabaigos ir sėklų brandos metu – rugsėjo 4 d. ( $37430,12 \pm 935,75 \mu\text{g/g}$ ) ir rugsėjo 20 d. ( $36896,84 \pm 922,42 \mu\text{g/g}$ ). Mažiausias cikoro rūgšties kiekis nustatytas žydėjimo pradžios metu (liepos 7 d.) –  $20415,16 \pm 510,38 \mu\text{g/g}$  ir butonizacijos metu (birželio 22 d.) –  $21449,127 \pm 536,23 \mu\text{g/g}$  (23 pav.).

Kaftaro rūgšties kiekis vegetacijos laikotarpiu kinta nuo  $3959,38 \pm 98,98 \mu\text{g/g}$  iki  $7464,93 \pm 186,62 \mu\text{g/g}$ . Vidutiniškai sukaupias kiekis –  $5899,24 \mu\text{g/g}$ . Didžiausias kiekis nustatytas sėklų brandos metu (rugsėjo 20 d.) ir siekia  $7464,93 \pm 186,62 \mu\text{g/g}$ , šiek tiek mažesnis kiekis nustatytas vegetacijos pradžioje (birželio 9 d.) –  $7122,39 \pm 178,06 \mu\text{g/g}$ . Mažiausias kiekis nustatytas žydėjimo pradžios metu (liepos 7 d.) –  $3959,38 \pm 98,98 \mu\text{g/g}$  ir masinio žydėjimo metu (rugpjūčio 25 d.) –  $4791,92 \pm 119,80 \mu\text{g/g}$  (23 pav.).

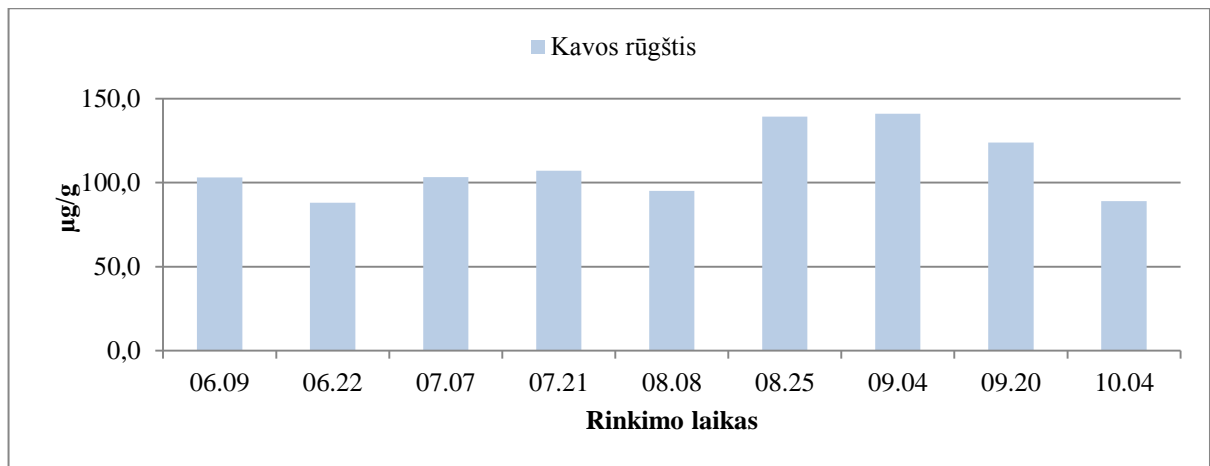
Chlorogeno rūgšties kiekis vegetacijos laikotarpiu kinta nuo  $2055,04 \pm 51,38 \mu\text{g/g}$  iki  $5705,86 \pm 142,65 \mu\text{g/g}$ . Vidutinis kiekis –  $3669,57 \mu\text{g/g}$ . Didžiausias kiekis nustatytas vegetacijos pradžioje (birželio 9 d.) ir siekia  $5705,86 \pm 142,65 \mu\text{g/g}$ , didelis kiekis chlorogeno rūgšties nustatytas ir vegetacijos pabaigoje (spalio 4 d.) –  $4815,64 \pm 120,39 \mu\text{g/g}$ . Mažiausi kiekiai butonizacijos metu (birželio 22 d.) –  $2055,04 \pm 51,38 \mu\text{g/g}$  ir masinio žydėjimo metu (rugpjūčio 25 d.) –  $2244,35 \pm 56,11 \mu\text{g/g}$  (23 pav.).



**23 pav. Kaftaro, chlorogeno ir cikoro rūgšties kiekio ( $\mu\text{g/g}$ ) įvairavimas paprastųjų trūkažolių žolėje skirtingu vegetacijos metu;  $n=3$**

Mūsų atlikto tyrimo metu nustatyta, kad cikoro rūgšties kiekis yra didžiausias iš visų sukaupiamų hidroksicinamono rūgščių. Taip patvirtina ir kiti tyrimai – 2015 metais Slovėnijoje Sinkovič et al., atlikto tyrimo metu nustatyta, kad paprastųjų trūkažolių žaliavose dominuojantys fenoliniai junginiai yra hidroksicinamono rūgštys, o iš jų – cikoro ir chlorogeno rūgštys [73]. Taip pat mūsų atlikto tyrimo metu nustatyta, kad cikoro rūgštis sudaro nuo 54 iki 69 proc. visų ESC metodu nustatytų junginių kiekio. Panašūs rezultatai gauti ir kitų tyrimų metu – Italijoje 2005 metais Innocenti et al., atlikta skirtingų paprastųjų trūkažolių rūšių fenolinių junginių analizė. Jos metu nustatyta, kad cikoro rūgštis sudarė didžiausią dalį (50-58 proc.) fenolinių junginių etanoliniuose paprastųjų trūkažolių antžeminių dalių ekstraktuose [74].

Paprastųjų trūkažolių žolėje yra sukaupiami žymiai mažesni kiekiai kavos rūgšties nei kitų hidroksicinamono rūgščių. Vidutinis sukaupiamas kiekis  $110,02 \mu\text{g/g}$ , o visos vegetacijos metu kiekis varijuoja nuo  $88,13 \pm 2,20 \mu\text{g/g}$  iki  $141,04 \pm 3,53 \mu\text{g/g}$ . Didžiausi sukaupiami kavos rūgšties kiekiai yra žydėjimo pabaigos metu (rugsėjo 4 d.) –  $141,04 \pm 3,53 \mu\text{g/g}$  ir masinio žydėjimo metu (rugpjūčio 25 d.) –  $139,34 \pm 3,48 \mu\text{g/g}$ . Mažiausi butonizacijos metu (birželio 22 d.) –  $88,13 \pm 2,20 \mu\text{g/g}$ , vegetacijos pabaigos metu (spalio 4 d.) –  $89,10 \pm 2,22 \mu\text{g/g}$  ir masinio žydėjimo metu (rugpjūčio 8 d.) –  $95,19 \pm 2,38 \mu\text{g/g}$  (24 pav).

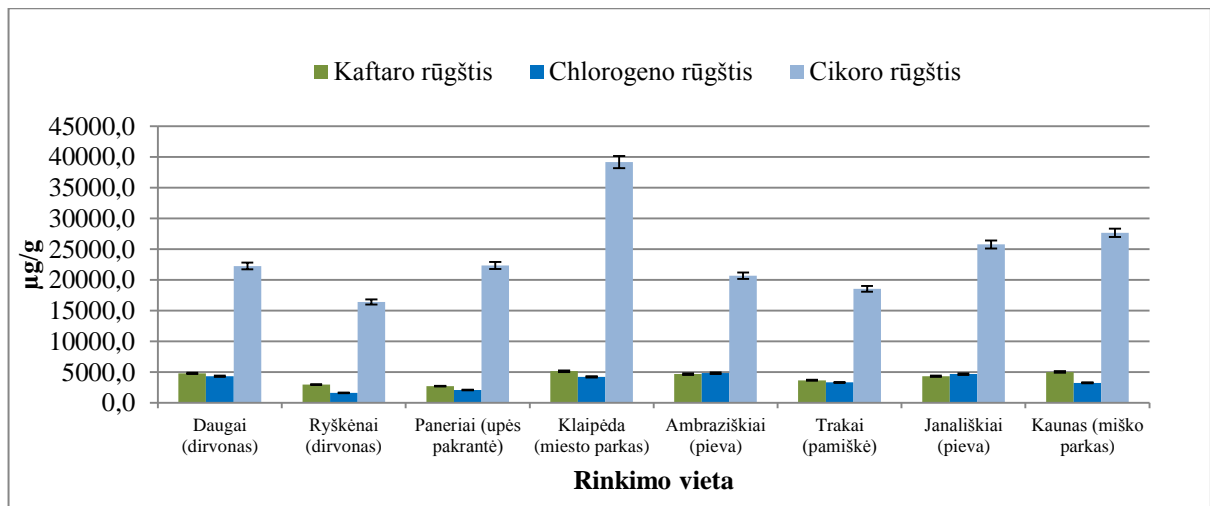


**24 pav. Kavos rūgšties kiekio ( $\mu\text{g/g}$ ) įvairavimas paprastųjų trūkažolių žolėje skirtingu vegetacijos metu;  $n=3$**

**Identifikuotų hidroksicinamono rūgšties darinių kiekio įvairavimo nustatymas paprastųjų trūkažolių žolės ekstraktuose skirtingose augavietėse, naudojant ESC metodą.** Didžiausias cikoro rūgšties kiekis nustatytas Klaipėdos mieste ir siekia  $39173,49 \pm 979,34 \mu\text{g/g}$ , mažiausias – Telšių raj. ( $16402,25 \pm 410,06 \mu\text{g/g}$ ) ir Trakuose ( $18536,24 \pm 463,41 \mu\text{g/g}$ ). Vidutinis sukaupiamas kiekis –  $24109,40 \mu\text{g/g}$ . Didesnį nei vidutinis cikoro rūgšties kiekis sukaupia tik iš 3 skirtingų miestų rinktos žaliavos – Klaipėdos, Panevėžio raj. ir Kauno (25 pav.).

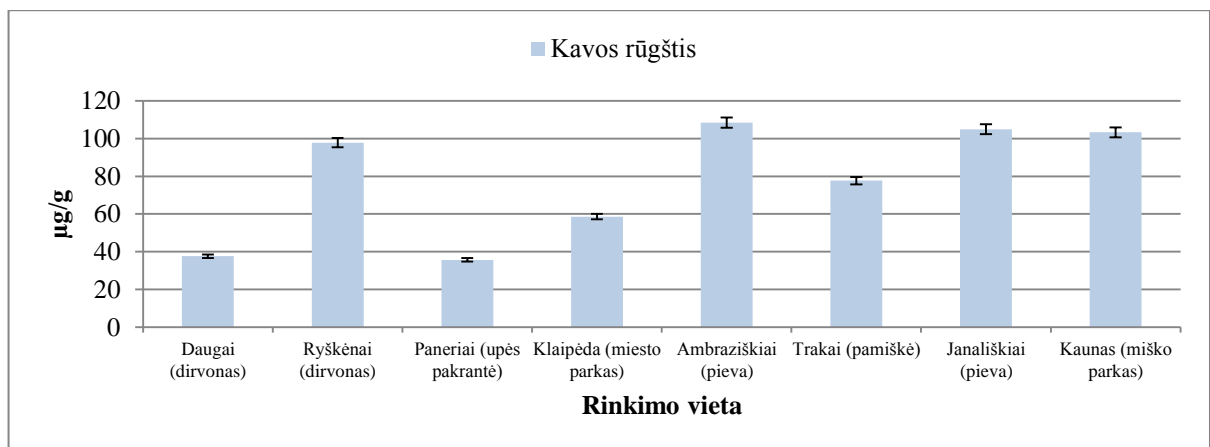
Kaftaro rūgšties kiekis skirtingose rinkimo vietose varijuoja nuo  $2705,11 \pm 67,63 \mu\text{g/g}$  iki  $5152,37 \pm 128,81 \mu\text{g/g}$ . Vidutinis kiekis –  $4158,64 \mu\text{g/g}$ . Daugiausia kaftaro rūgšties rasta žolėje, rinktoje Klaipėdos mieste ( $5152,37 \pm 128,81 \mu\text{g/g}$ ) ir Kaune ( $5023,09 \pm 125,58 \mu\text{g/g}$ ). Mažiausi sukaupiti kiekiai nustatyti Vilniaus raj. ( $2705,11 \pm 67,63 \mu\text{g/g}$ ) ir Telšių raj. ( $2965,36 \pm 74,13 \mu\text{g/g}$ ) (25 pav.).

Chlorogeno rūgšties kiekis skirtingose rinkimo vietose įvairuoja nuo  $1601,31 \pm 40,03 \mu\text{g/g}$  iki  $4817,01 \pm 120,425 \mu\text{g/g}$ . Didžiausias kiekis nustatytas Molėtų raj. ( $4817,01 \pm 120,425 \mu\text{g/g}$ ), šiek tiek mažesnis Panevėžio raj. ( $4663,65 \pm 116,59 \mu\text{g/g}$ ). Mažiausias Telšių raj. ( $1601,31 \pm 40,03 \mu\text{g/g}$ ) ir Vilniaus raj. ( $2073,14 \pm 51,83 \mu\text{g/g}$ ) (25 pav.).



25 pav. Kaftaro, chlorogeno ir cikoro rūgšties kiekio ( $\mu\text{g/g}$ ) įvairavimas paprastųjų trūkažolių žolėje skirtingose augimo vietose;  $n=3$

Kavos rūgšties kiekiai, nustatyti paprastųjų trūkažolių žolėje, yra ženkliai mažesni nei kitų hidroksicinamono rūgščių. Vidutinis sukaupiamas kavos rūgšties kiekis yra  $78,50 \mu\text{g/g}$ . Bendrai kiekis varijuoja nuo  $35,68 \pm 0,89 \mu\text{g/g}$  iki  $108,54 \pm 2,71 \mu\text{g/g}$ . Didžiausias kiekis kavos rūgšties randamas žolėje, rinktoje Molėtų raj. ( $108,54 \pm 2,71 \mu\text{g/g}$ ), šiek tiek mažesnis Kaune ( $107,19 \pm 2,68 \mu\text{g/g}$ ) ir Panevėžio raj. ( $104,93 \pm 2,62 \mu\text{g/g}$ ). Mažiausias kiekis nustatytas Vilniaus raj. ( $35,68 \pm 0,89 \mu\text{g/g}$ ), panašus nustatytas ir Alytaus raj. ( $37,58 \pm 0,94 \mu\text{g/g}$ ) (26 pav.).



26 pav. Kavos rūgšties kiekio ( $\mu\text{g/g}$ ) įvairavimas paprastųjų trūkažolių žolėje skirtingose augavietėse;  $n=3$

**Identifikuotų hidroksicinamono rūgšties darinių kiekio įvairavimo nustatymas paprastųjų trūkažolių šaknyse vegetacijos metu.** Nustatyta, kad šaknyse kaupiama daugiausia chlorogeno rūgšties. Vegetacijos pradžioje jos kaupiama mažiau nei sėklų brandos metu.

Cikoro rūgšties vegetacijos pradžioje sukaupiamas kiekis didesnis nei sėklų brandos metu.

Kaftaro rūgšties paprastųjų trūkažolių šaknyse kaupiama daugiau vegetacijos pradžioje nei sėklų brandos metu.

Kavos rūgštis kaupiama ženkliai mažiau nei kitų rūgščių. Panašūs kiekiai nustatyti vegetacijos pradžioje ir sėklų brandos metu (4 lentelė).

**4 lentelė. Hidroksicinamono rūgštis darinių kiekio ( $\mu\text{g/g}$ ) įvairavimas paprastųjų trūkažolių šaknyse vegetacijos periodu;  $n=3$**

	Birželio 9 d.	Rugsėjo 20 d.
Chlorogeno rūgštis	2335,78	2523,90
Cikoro rūgštis	2019,03	1653,02
Kaftaro rūgštis	358,88	292,13
Kavos rūgštis	18,74	20,23

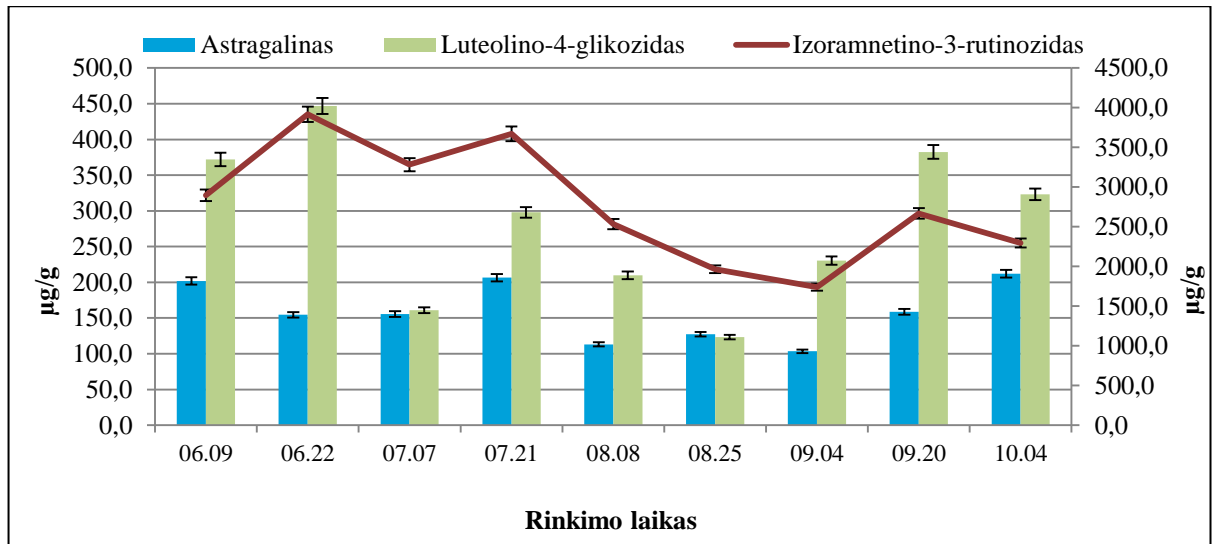
Mūsų atlikto tyrimo metu nustatytas reikšmingai ( $p<0,05$ ) didelis chlorogeno rūgštis kiekis. 2009 metais Egipte Mona et al., atlikto tyrimo metu nustatyta, kad paprastųjų trūkažolių šaknyse, rinktose prieš žydėjimo periodą, kaupiamas didžiausias procentinis kavos, m-kumaro ir p-kumaro rūgščių kiekis. Chlorogeninė rūgštis tuo tarpu sudarė tik 10 proc. visų fenolinių junginių kiekio [75].

**Identifikuotų flavonoidų kiekio įvairavimo nustatymas paprastųjų trūkažolių žolės ekstraktuose vegetacijos metu, naudojant ESC metodą.** Paprastųjų trūkažolių žaliavoje identifikuoti trys skirtingi flavonoidai – astragalinas, izoramnetino-3-rutinozidas ir luteolino-4-glikozidas (27 pav.). Didžiausi sukaupti kiekiai izoramnetino-3-rutinozido. Vegetacijos metu vidutiniškai jo sukaupta 2773,75  $\mu\text{g/g}$ . Didžiausias kiekis nustatytas butonizacijos metu ( $3916,92 \pm 97,92 \mu\text{g/g}$ ), mažiausias – masinio žydėjimo pabaigoje rugsėjo 4 d. ( $1738,22 \pm 43,46 \mu\text{g/g}$ ).

Astragalino kiekis žaliavoje įvairuoja nuo  $103,40 \pm 2,59 \mu\text{g/g}$  iki  $212,09 \pm 5,30 \mu\text{g/g}$ . Vidutiniškai sukauptas kiekis 159,31  $\mu\text{g/g}$ . Didžiausi astragalino kiekiai sukaupti vegetacijos pabaigos metu (spalio 4 d.) –  $212,09 \pm 5,30 \mu\text{g/g}$ . Mažiausias kiekis nustatytas žydėjimo pabaigos metu (rugsėjo 4 d.) –  $103,40 \pm 2,59 \mu\text{g/g}$ .

Luteolino-4-glikozido vidutiniškai sukauptama 282,91  $\mu\text{g/g}$ . Daugiausiai sukauptama butonizacijos metu birželio 22 d. –  $446,70 \pm 11,17 \mu\text{g/g}$ , o mažiausiai 123,49  $\pm 3,09 \mu\text{g/g}$  (rugjūčio 25 d.).



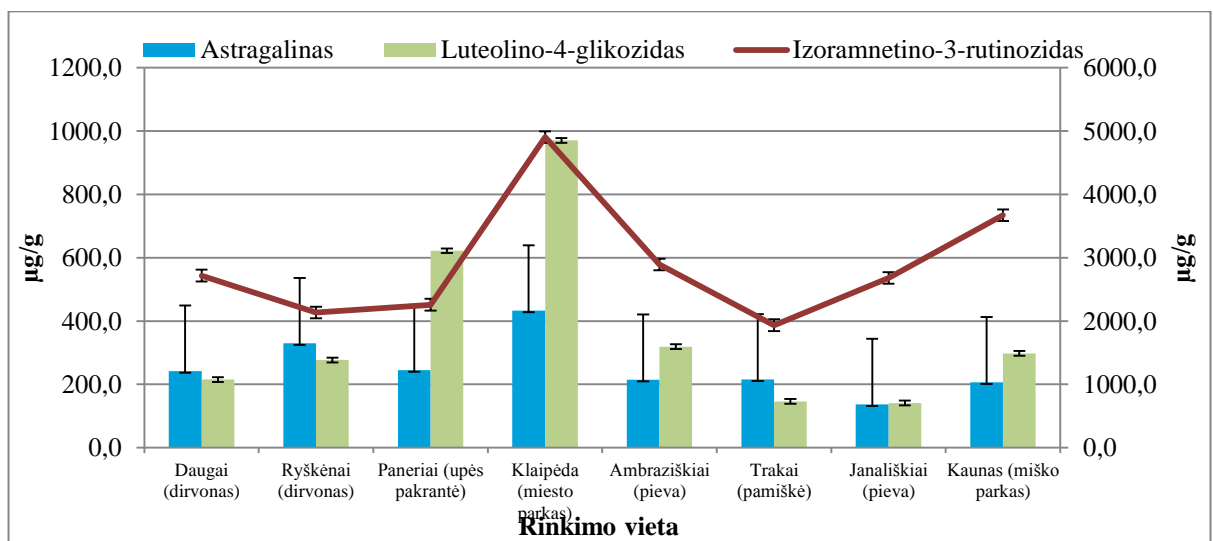


27 pav. Flavonoidų (astragalino, izoramnetino-3-rutinozido, luteolino-4-glikozido) kiekio (µg/g) įvairavimas paprastųjų trūkažolių žolėje skirtingu vegetacijos metu; n=3

Identifikuotų flavonoidų kiekio įvairavimo nustatymas paprastųjų trūkažolių žolės ekstraktuose skirtingose augavietėse, naudojant ESC metodą. Izoramnetino-3-rutinozido daugiausia sukaupiama Klaipėdos mieste –  $4903,53 \pm 122,59$  µg/g, o mažiausiai sukaupiama Trakuose rinktoje žaliavoje –  $1934,47 \pm 48,36$  µg/g.

Astragalino sukaupiami kiekiai įvairuoja nuo  $137,03 \pm 3,43$  µg/g (Trakuose) iki  $432,77 \pm 10,82$  µg/g (Klaipėdos mieste).

Luteolino-4-glikozido daugiausia nustatyta Klaipėdos mieste –  $970,46 \pm 24,26$  µg/g, o mažiausiai nustatyta Panevėžio raj. –  $141,16 \pm 3,53$  µg/g (28 pav.).



28 pav. Flavonoidų (astragalino, izoramnetino-3-rutinozido, luteolino-4-glikozido) kiekio (µg/g) įvairavimas paprastųjų trūkažolių žolėje skirtingose augavietėse; n=3

**Identifikuotų flavonoidų kiekio įvairavimo nustatymas paprastųjų trūkažolių šaknų ekstraktuose vegetacijos metu, naudojant ESC metodą.** Šaknyse didesni kiekiai veikliųjų medžiagų sukaupiami birželio 9 d. (vegetacijos pradžioje), nei rugsėjo 20 d. (sėklų brandos metu). Astragalino sukaupiami kiekiai labai ženkliai nesiskiria (atitinkamai vegetacijos pradžioje  $8,51 \pm 0,21 \mu\text{g/g}$ , o sėklų brandos metu  $5,26 \pm 0,13 \mu\text{g/g}$ ).

Luteolino-4-glikozido vegetacijos pradžioje rinktoje žaliavoje randama daugiau nei sėklų brandos metu.

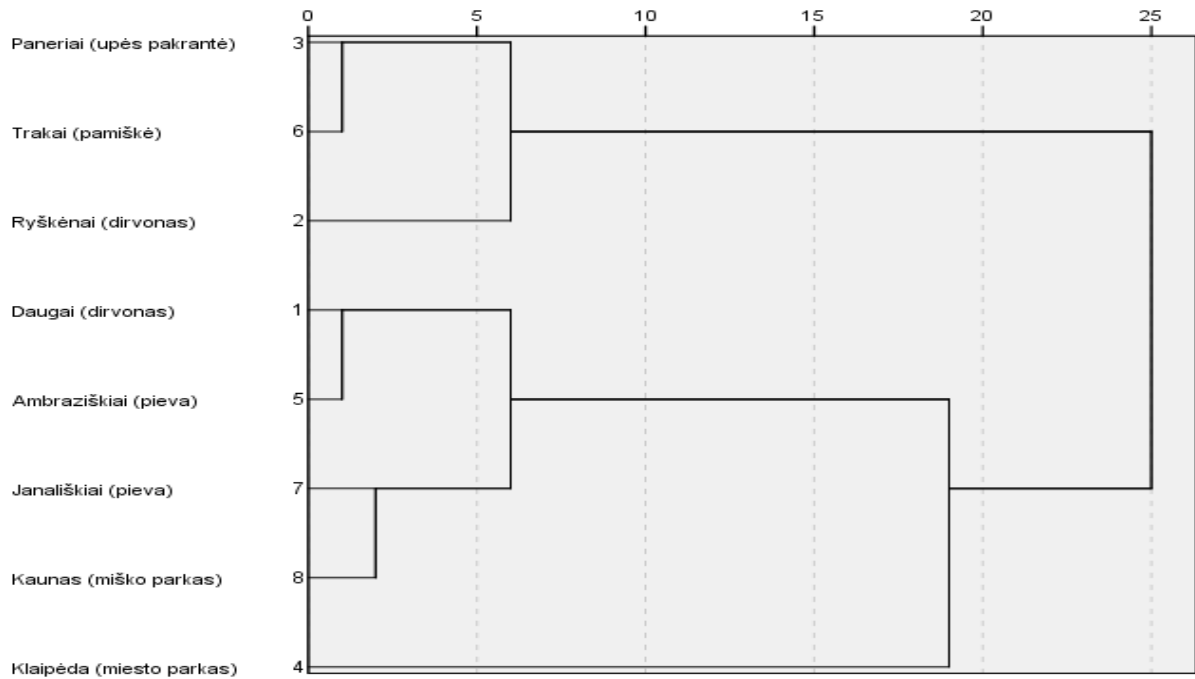
Izoramnetino-3-rutinozido kiekiai, sukaupti paprastųjų trūkažolių šaknų ekstraktuose, skiriasi beveik dvigubai. Vegetacijos pradžioje sukaupiami  $127,92 \pm 3,20 \mu\text{g/g}$ , o sėklų brandos metu –  $67,01 \pm 1,68 \mu\text{g/g}$  (5 lentelė).

Lyginant prieš tai gautus duomenis ir ESC metodu nustatytus, matome, kad didesnis flavonoidų kiekis spektrofotometriniu būdu nustatomas sėklų brandos metu, o ESC metodu – vegetacijos pradžioje. Tai galima paaiškinti tuo, kad ESC metodu nustatomi tik keletas junginių, o bendrą kiekį lemia visi flavonoidų junginiai.

**5 lentelė. Flavonoidų (astragalino, izoramnetino-3-rutinozido, luteolino-4-glikozido) kiekio ( $\mu\text{g/g}$ ) įvairavimas paprastųjų trūkažolių šaknyse skirtingu vegetacijos metu;  $n=3$**

	Birželio 9 d.	Rugsėjo 20 d.
Astragalinas	8,51	5,26
Luteolino-4-glikozidas	5,66	3,33
Izoramnetino-3-rutinozidas	127,92	67,01

**ESC metodu identifikuotų junginių pasiskirstymo pagal augavietes hierarchinės klesterinės analizės dendrograma paprastųjų trūkažolių žolėje.** 29 pav. pavaizduota klesterinės analizės dendrograma, kurioje parodomas ESC metodu identifikuotų junginių pasiskirstymas paprastųjų trūkažolių žolės ekstraktuose pagal augimo vietas. Dendrogramoje skiriamos dvi grupės. Pirmajai priklauso Klaipėdos m., Kaunas, Molėtų raj. Ambraziškiai, Alytaus raj. Daugai, Panevėžio raj. Janališkiai. Antrajai grupei priklauso likusiose augavietėse rinktos žolės. Daugiasia junginių nustatyta Klaipėdos mieste rinktoje žolėje – ji priklauso pirmos grupės pirmam pogrupiui. Antrajam pogrupiui priklauso Kaunas, Molėtų raj. Ambraziškiai, Alytaus raj. Daugai, Panevėžio raj. Janališkiai. Antrajai grupei priklauso mažiausiai junginių surinkusios vietovės. Antrosios grupės pirmam pogrupiui priskiriamas Telšių raj. Ryškėnų km., kuriame nustatytas mažiausias junginių kiekis. Antrajam pogrupiui priklauso Trakų ir Vilniaus raj. Paneriai, kuriuose nustatytas šiek tiek didesnis junginių kiekis nei Telšių raj.



**29 pav. ESC metodu identifikuotų junginių pasiskirstymo pagal augavietes hierarchinės klasterinės analizės dendrograma paprastųjų trūkažolių žolėje**

### 3.7. Koreliacinių ryšių įvertinimas

Atlikta koreliacinė analizė pagal Spirmeno koreliacijos koeficientą nustatyti koreliacinius ryšius. 6 lentelėje nurodyti koreliaciniai stiprumai vegetacijos periodu paprastųjų trūkažolių žolėje tarp antioksidantinio aktyvumo ir bendro hidroksicinamono, flavonoidų ir ESC metodu nustatytų fenolinių rūgščių ir flavonoidų kiekio.

Nustatytas statistiškai reikšmingas vidutiniškai stiprus (0,3 – 0,7) koreliacijos ryšys tarp redukcinio aktyvumo ir hidroksicinamono rūgšties darinių kiekio, suminio flavonoidų kiekio ir kavos rūgšties. Stiprus ryšys nustatytas tarp redukcinio aktyvumo ir cikoro rūgšties kiekio.

Statistiškai reikšmingas vidutiniškai stiprus koreliacijos ryšys nustatytas tarp antiradikalinio aktyvumo reikšmės ir kavos, kaftaro ir izoramnetino-3-rutinozido kiekio.

**6 lentelė. Koreliacijos koeficientai (\* $p < 0,05$ )**

	Antiradikalinis aktyvumas ( $\mu\text{mol/g}$ )	Redukcinis aktyvumas ( $\mu\text{mol/g}$ )
Hidroksicinamono rūgšties darinių kiekis (mg/g)	0,377	0,577*
Flavonoidų kiekis (mg/g)	0,483	0,677*
Kavos rūgšties kiekis ( $\mu\text{g/g}$ )	0,633*	0,600*
Kaftaro rūgšties kiekis ( $\mu\text{g/g}$ )	0,583*	0,250

Chlorogeno rūgšties kiekis ( $\mu\text{g/g}$ )	0,383	0,083
Cikoro rūgšties kiekis ( $\mu\text{g/g}$ )	0,450	0,733*
Astragalino kiekis ( $\mu\text{g/g}$ )	0,283	0,133
Izoramnetino-3-rutinozido kiekis ( $\mu\text{g/g}$ )	0,650*	0,367
Luteolino-4-glikozido kiekis ( $\mu\text{g/g}$ )	0,017	0,100

Antioksidantinį aktyvumą lemia hidroksicinamono rūgščių kompleksas. Cikoro rūgštis yra dominuojantis trūkažolių žaliavų junginys, kurio kiekis daro reikšmingą įtaką redukciniam aktyvumui.

## 4. IŠVADOS

1. Nustatyta, kad bendras hidroksicinamatų ir flavonoidų kiekis vegetacijos laikotarpiu paprastųjų trūkažolių žolės ekstraktuose reikšmingai kinta ( $p < 0,05$ ). Didžiausi hidroksicinamatų ir flavonoidų kiekiai nustatyti žydėjimo pabaigos metu (atitinkamai  $3,65 \pm 0,01$  mg/g ir  $33,40 \pm 0,11$  mg/g) ir butonizacijos metu (flavonoidai) –  $37,30 \pm 0,38$  mg/g ( $p < 0,05$ ). Didžiausi sukaupiami hidroksicinamatų ir flavonoidų kiekiai nustatyti Klaipėdos ir Kauno mieste, bei Vilniaus raj.
2. Trūkažolių šaknų ekstraktuose didžiausias ( $p < 0,05$ ) hidroksicinamono rūgšties darinių bei flavonoidų kiekis nustatytas sėklų brandos metu (rugsėjo 20 d.), atitinkamai  $0,87 \pm 0,01$  mg/g, ir  $1,87 \pm 0,22$  mg/g.
3. Antiradikalinis aktyvumas paprastųjų trūkažolių žolės ekstraktuose vegetacijos metu reikšmingai ( $p < 0,05$ ) svyruoja nuo  $134,55 \pm 1,22$   $\mu\text{mol/g}$  iki  $243,05 \pm 2,04$   $\mu\text{mol/g}$ . Redukcinis aktyvumas paprastųjų trūkažolių žolėje vegetacijos periodu varijuoja nuo  $198,85 \pm 1,83$   $\mu\text{mol/g}$  iki  $301,35 \pm 2,65$   $\mu\text{mol/g}$ . Antiradikalinio ir redukcinio aktyvumo reikšmės pasiekia maksimumą masinio žydėjimo metu. Paprastųjų trūkažolių šaknų ekstraktų antiradikalinis ir redukcinis aktyvumas didžiausias ( $p < 0,05$ ) sėklų brandos metu.
4. Paprastųjų trūkažolių žaliavose identifikuoti šie junginiai: kavos, kaftaro, cikoro, chlorogeno rūgštis, astragalinas, izoramnetino-3-rutinozidas, luteolino-4-glikozidas. Daugiausia nustatyta cikoro rūgšties,  $37430,12 \pm 935,75$   $\mu\text{g/g}$ , žydėjimo pabaigos ir sėklų brandos metu.

## 5. PRAKTINĖS REKOMENDACIJOS

Ištirus Lietuvoje natūraliai augančių paprastųjų trūkažolių žolės ir šaknų hidroksicinamatų ir flavonoidų sudėties įvairavimą vegetacijos metu, įvertinus antioksidantinį tyrimą, rekomenduojame žaliavą paprastųjų trūkažolių žolės ekstraktų gamybai rinkti nuo masinio žydėjimo pradžios iki sėklų brandos pabaigos, o šaknų ekstraktų gamybai – sėklų brandos metu, kadangi šiuose tarpsniuose žaliavose nustatytas didžiausias fenolinių junginių kiekis ir didžiausias ekstraktų antioksidantinis aktyvumas

Nustatyta, kad paprastųjų trūkažolių žolė yra natūralaus antioksidanto cikoro rūgšties ir kitų hidroksicinamatų augalinis šaltinis. Todėl paprastųjų trūkažolių žolė ir šaknys gali būti perspektyvi žaliava antioksidantiems preparatams kurti.

## 6. LITERATŪROS SĄRAŠAS

1. Das S, Vasudeva N, Sharma S. *Cichorium intybus* : A concise report on its ethnomedicinal, botanical, and phytopharmacological aspects. *Drug Development and Therapeutics* 7.1 [Internet]. 2016;7(1):1. Available from: <http://www.ddtjournal.org/text.asp?2016/7/1/1/180157>
2. Montefusco A, Semitaio G, Marrese PP, Iurlaro A, De Caroli M, Piro G, et al. Antioxidants in varieties of chicory (*Cichorium intybus* L.) and wild poppy (*Papaver rhoeas* L.) of Southern Italy. *Journal of Chemistry*. 2015;2015.
3. Maisuthisakul P. Use of Plant Phenolic Compounds as Antioxidants. *Food Chem*. 2005;222–38.
4. Denev P, Petkova N, Ivanov I, Sirakov B, Vrancheva R, Pavlov A. Determination of Biologically Active Substances in Taproot of Common Chicory (*Cichorium Intybus* L.). *Scientific Bulletin. Series F. Biotechnologies* 18 (2014): 124-129
5. Calabrese N, Bianco VV. Harvesting time on yield and quality of stem chicory (*Cichorium intybus* L.). *Acta Hort* 2000. p. 505–5010.
6. World Health Organization. WHO guidelines on good agricultural and collection practices (GACP) for medicinal plants. *World Health*. 2003;99(1):67–73.
7. Wang Q, Cui J. Perspectives and utilization technologies of chicory (*Cichorium intybus* L.): A review. *African Journal of Biotechnology* 10.11 (2011): 1966-1977 Available from: <http://www.ajol.info/index.php/ajb/article/view/93101>
8. European Medicines Agency. Assessment report on *Cichorium intybus* L., radix. 2013;44 (January):EMA/HMPC/113041/2010.
9. Hao DC, Gu X-J, Xiao PG. Medicinal Plants: Chemistry, biology and omics. *Woodhead Publishing* [Internet] 2015; (484):49–96. Available from: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/B9780081000854000025>
10. Integrated taxonomic information system.
11. Gudžinskas Z, Balvočiūtė J. Lietuvos vaistiniai augalai: pažįstami, bet nežinomi, kūno sveikatai, sielos džiaugsmui. Kaunas: Šviesa; 2007. 158 p.
12. Bakšytė I, Balevičius K, Bandzaitienė Z. Vaistiniai augalai. Vilnius; 1973. 432 p.
13. Vasiliauskas J. Gamtos vaistinė: žolelių antpilai, nuovirai, pavilgai, vonios nuo visų ligų. Vilnius: Alma littera; 2010. 471 p.
14. Reaume T. Chichory *Cichorium intybus* Asteraceae — Aster family, Nature Manitoba. 2010;5–7.
15. Bais HP, Ravishankar GA. *Cichorium intybus* L - Cultivation, processing, utility, value addition and biotechnology, with an emphasis on current status and future prospects. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 2001;81(5):467–84.

16. Dalar A, Konczak I. Cichorium intybus from Eastern Anatolia: Phenolic composition, antioxidant and enzyme inhibitory activities. *Industrial Crops and Products* [Internet]. 2014;60(June):79–85. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.indcrop.2014.05.043>
17. Street RA, Sidana J, Prinsloo G. Cichorium intybus: Traditional uses, phytochemistry, pharmacology, and toxicology. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*. 2013;2013:1–13.
18. Petrovic J, Stanojkovic A, Comic L, Curcic S. Antibacterial activity of Cichorium intybus. *Fitoterapia*. 2004;75(7–8):737–9.
19. Shaikh T, Rub RA, Sasikumar S. Antimicrobial screening of Cichorium intybus seed extracts. *Arabian Journal of Chemistry* [Internet]. 2012;9:S1569–73. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.arabjc.2012.04.012>
20. Kumari SN and BDR. Phytochemical and Antibacterial Studies of Chicory (Cichorium intybus L.) - A Multipurpose Medicinal Plant. *Advances in Biological Research* [Internet]. 2007;1(June):17–21. Available from: [http://idosi.org/abr/1\(1-2\)/2.pdf](http://idosi.org/abr/1(1-2)/2.pdf)
21. Bajpai VK, Al-Reza SM, Choi UK, Lee JH, Kang SC. Chemical composition, antibacterial and antioxidant activities of leaf essential oil and extracts of *Metasequoia glyptostroboides* Miki ex Hu. *Food and Chemical Toxicology* [Internet]. 2009;47(8):1876–83. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.fct.2009.04.043>
22. Foster JG, Cassida KA, Turner KE. In vitro analysis of the anthelmintic activity of forage chicory (Cichorium intybus L.) sesquiterpene lactones against a predominantly *Haemonchus contortus* egg population. *Veterinary Parasitology* [Internet]. 2011;180(3–4):298–306. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.vetpar.2011.03.013>
23. Miller MC, Duckett SK, Andrae JG. The effect of forage species on performance and gastrointestinal nematode infection in lambs. *Small Ruminant Research* [Internet]. 2011;95(2–3):188–92. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.smallrumres.2010.09.006>
24. Bischoff TA, Kelley CJ, Karchesy Y, Laurantos M, Nguyen-Dinh P, Arefi AG. Antimalarial activity of Lactucin and Lactucopicrin: Sesquiterpene lactones isolated from Cichorium intybus L. *Journal of ethnopharmacology*. 2004;95(2–3):455–7.
25. Liu H, Wang Q, Liu Y, Chen G, Cui J. Antimicrobial and Antioxidant Activities of Cichorium Intybus Root Extract Using Orthogonal Matrix Design. *Journal of food science*. 2013;78(2).
26. Jamshidzadeh A, Javad M, Dehghani Z. Hepatoprotective Activity of Cichorium intybus L. Leaves Extract Against Carbon Tetrachloride Induced Toxicity. *Iranian Journal of Pharmaceutical Research* 2006;(February 2005):41–6.
27. Naseem, N. Hepatoprotective effect of Cichorium Intybus linn ( Kasni ) Extracts against Carbon Tetrachloride induced Liver Damage . *JRMC* : 2009;13(7):53–5.



28. Ahmed B, Al-Howiriny TA, Siddiqui AB. Antihepatotoxic activity of seeds of *Cichorium intybus*. *Journal of ethnopharmacology*. 2003;87(2–3):237–40.
29. Muthusamy VS, Anand S, Sangeetha KN, Sujatha S, Arun B, Lakshmi BS. Tannins present in *Cichorium intybus* enhance glucose uptake and inhibit adipogenesis in 3T3-L1 adipocytes through PTP1B inhibition. *Chemico-biological interactions*. 2008;174(1):69–78.
30. Praveen K, Amod K, Arvind, K M, Rakesh, K D, Ajay, K G. Evaluating hypolipidemic potential of Kasni seed (*Cichorium intybus*) preparations in newly diagnosed patients of metabolic disorder. *International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research* 2015;6(9):4092–102.
31. Abdel-rahim EA, Rashed MM, El-hawary ZM, Abdelkader MM. Anti-diabetic Effect of *Cichorium intybus* Leaves and *Plantago ovate* Seeds in High Fat Diet-streptozotocin Induced Diabetic Rats. *Journal of Food and Nutrition Research* 2016;4(5):276–81.
32. Shim D-W, Han J-W, Ji Y-E, Shin W-Y, Koppula S, Kim M-K, et al. *Cichorium intybus* Linn. Extract Prevents Type 2 Diabetes Through Inhibition of NLRP3 Inflammasome Activation. *Journal of medicinal food* [Internet]. 2016;19(3):310–7. Available from: <http://online.liebertpub.com/doi/10.1089/jmf.2015.3556>
33. Ricciotti E, Fitzgerald GA. Prostaglandins and inflammation. *Arteriosclerosis, thrombosis, and vascular biology* 2011;31(5):986–1000.
34. Mulabagal V, Wang H, Ngouajio M, Nair MG. Characterization and quantification of health beneficial anthocyanins in leaf chicory (*Cichorium intybus*) varieties. *European Food Research and Technology*. 2009;230(1):47–53.
35. Wesolowska A, Nikiforuk A, Michalska K, Kisiel W, Chojnacka-Wojcik E. Analgesic and sedative activities of lactucin and some lactucin-like guaianolides in mice. *Journal of Ethnopharmacology* 2006;107(2):254–8.
36. Dai J, Mumper RJ. Plant phenolics: Extraction, analysis and their antioxidant and anticancer properties. *Molecules*. 2010;15(10):7313–52.
37. Pandey KB, Rizvi SI. Plant polyphenols as dietary antioxidants in human health and disease. *Oxidative medicine and cellular longevity* [Internet]. 2009;2(5):270–8. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20716914> <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=PMC2835915>
38. Ruiz JM, Romero L. Bioactivity of the phenolic compounds in higher plants. *Studies in natural products chemistry*. 2001;25:651–81.
39. Ames BN, Shigenaga MK, Hagen TM. Oxidants, antioxidants, and the degenerative diseases of aging. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 1993;90(17):7915–22.
40. Manach C, Scalbert A, Morand C et al. Polyphenols: food sources and bioavailability. *The*

- American journal of clinical nutrition*. 2004;79:727–47.
41. Robards K, Prenzler PD, Tucker G, Swatsitang P, Glover W. Phenolic compounds and their role in oxidative processes in fruits. *Food chemistry*. 1999;66(4):401–36.
  42. Thilakarathna SH, Vasantha Rupasinghe HP. Flavonoid bioavailability and attempts for bioavailability enhancement. *Nutrients*. 2013;5(9):3367–87.
  43. Fraisse D, Felgines C, Texier O, Lamaison J-L. Caffeoyl Derivatives: Major Antioxidant Compounds of Some Wild Herbs of the Asteraceae Family. *Food and Nutrition Sciences* 2011;2(3):181–92.
  44. Willeman H, Hance P, Fertin A, Voedts N, Duhai N, Goossens JF, et al. A method for the simultaneous determination of chlorogenic acid and sesquiterpene lactone content in industrial chicory root foodstuffs. *The Scientific World Journal*. 2014;2014.
  45. Sroka Z. Antioxidative and antiradical properties of plant phenolics. *Zeitschrift für Naturforschung*. 2005;60(11–12):833–43.
  46. Khoddami A, Wilkes MA, Roberts TH. Techniques for analysis of plant phenolic compounds. *Molecules*. 2013;18(2):2328–75.
  47. Tsao R. Chemistry and biochemistry of dietary polyphenols. *Nutrients*. 2010;2(12):1231–46.
  48. Grotewold E. The science of flavonoids. 2006. 1-273 p.
  49. Capacity F. Iris Erlund Chemical analysis and pharmacokinetics of the flavonoids quercetin , hesperetin and naringenin in humans. National Public Health Institute, 2002.
  50. Uleckiene S. Antioksidantų vartojimo galimybės onkologijoje. *Sveikatos Mokslai* 2011;21(7):154–9.
  51. Gutowski M, Kowalczyk S. A study of free radical chemistry: Their role and pathophysiological significance. *Acta Biochimica Polonica*. 2013;60(1):1–16.
  52. Valko M, Leibfritz D, Moncol J, Cronin MT, Mazur M, Telser J. Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. *The international journal of biochemistry & cell biology*. 2007;39(1):44–84.
  53. Kasparavičienė G, Briedis V. Kai kurie antioksidantų veikimo aspektai mažinant neigiamą laisvųjų radikalų poveikį. *Biomedicina* 2002;2(2):187–91.
  54. Lone A, Ganai S, Ahanger R, Bhat H. Free radicals and antioxidants: Myths, facts and mysteries. *African Journal of Pure and Applied Chemistry* [Internet]. 2013;7(3):91–113. Available from: [http://www.academicjournals.org/AJPAC/PDF/pdf2013/Mar/Lone et al.pdf](http://www.academicjournals.org/AJPAC/PDF/pdf2013/Mar/Lone%20et%20al.pdf)
  55. Lobo V, Patil A, Phatak A, Chandra N. Free radicals, antioxidants and functional foods: Impact on human health. *Pharmacognosy reviews* 48. 2010;
  56. Pham-Huy LA, He H, Pham-Huy C. Free radicals, antioxidants in disease and health. *International journal of biomedical sciences* [Internet]. 2008;4(2):89–96. Available from:

- <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=3614697&tool=pmcentrez&rendertype=abstract>
57. Sabry M. El-Bahr. Biochemistry of Free Radicals and Oxidative Stress. *Science international* 2013;1(5). p. 117–117.
  58. Barrera G. Oxidative stress and lipid peroxidation products in cancer progression and therapy. *ISRN Oncology* [Internet]. 2012;2012:137289. Available from: <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=3483701&tool=pmcentrez&rendertype=abstract>
  59. Thomas DD. Oxidative Stress. *Encyclopedia of biophysics*. Springer Berlin Heidelberg 2013. 1813-1818 p.
  60. Apak R, Gorinstein S, Böhm V, Schaich KM, Özyürek M, Güçlü K. Methods of measurement and evaluation of natural antioxidant capacity/activity (IUPAC Technical Report). *Pure and Applied Chemistry*. 2013;85(5):957–98.
  61. Prior RL, Wu X, Schaich K. Standardized methods for the determination of antioxidant capacity and phenolics in foods and dietary supplements. *Journal of agricultural and food chemistry*. 2005;53(10):4290–302.
  62. Prior RL, Hoang H, Gu L, Wu X, Bacchiocca M, Howard L, et al. Assays for hydrophilic and lipophilic antioxidant capacity (oxygen radical absorbance capacity (ORACFL)) of plasma and other biological and food samples. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 2003;51(11):3273–9.
  63. Y. El Rayess, R. Barbar, E. A. Wilson JB. Nalytical Methods for Wine Polyphenols Analysis and for Their Antioxidant Activity Evaluation. *Wine: Phenolic Composition, Classification and Health Benefits* 2014;(March):1–32. Available from: <http://scholar.google.com.au/%5Cnfile:///Users/ericwilkes/Dropbox/Library.papers3/Files/FC/F C395088-3E7B-4623-84F7-81171354A34B.pdf%5Cnpapers3://publication/uuid/18F99A6B-F50A-4FEE-8D44-1C7E2D65C360>
  64. Raudonis R, Raudonė L, Janulis V. Antiradikalinio ir redukcinio aktyvumo nustatymo metodai (apžvalga). *Sodininkystė ir daržininkystė* 2012;31:15–22.
  65. Antolovich M, Prenzler PD, Patsalides E, Mcdonald S, Robards K. Methods for testing antioxidant activity. *Analyst*. 2002;127:183–98.
  66. Magalhães, Luís M.. Automatic Method for the Determination of Folin – Ciocalteu Reducing Capacity in Food Products. *Journal of agricultural and food chemistry* 200654(15);
  67. Benzie I., Strain J. The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of “antioxidant power”: the FRAP assay. *Analytical biochemistry* [Internet]. 1996;239(1):70–6. Available from: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0003269796902924>

68. Azmir J, Zaidul ISM, Rahman MM, Sharif KM, Mohamed A, Sahena F, et al. Techniques for extraction of bioactive compounds from plant materials: A review. *Journal of Food Engineering* [Internet]. 2013;117(4):426–36. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2013.01.014>
69. Hwang ES, Thi N Do. Effects of extraction and processing methods on antioxidant compound contents and radical scavenging activities of laver (*Porphyra tenera*). *Preventive nutrition and food science* 2014;19(1):40–8.
70. Teh SS, Birch EJ. Effect of ultrasonic treatment on the polyphenol content and antioxidant capacity of extract from defatted hemp, flax and canola seed cakes. *Ultrasonics sonochemistry* [Internet]. 2014;21(1):346–53. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.ultsonch.2013.08.002>
71. Abbas ZK, Saggi S, Sakeran MI, Zidan N, Rehman H, Ansari AA. Phytochemical, antioxidant and mineral composition of hydroalcoholic extract of chicory (*Cichorium intybus* L.) leaves. *Saudi journal of biological sciences* [Internet]. 2014;22(3):322–6. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.sjbs.2014.11.015>
72. Tiveron AP, Melo PS, Bergamaschi KB, Vieira TMFS, Regitano-d'Arce MAB, Alencar SM. Antioxidant activity of Brazilian vegetables and its relation with phenolic composition. *International journal of molecular sciences* 2012;13(7):8943–57.
73. Sinkovic L, Demsar L, Znidarcic D, Vidrih R, Hribar J, Treutter D. Phenolic profiles in leaves of chicory cultivars (*Cichorium intybus* L.) as influenced by organic and mineral fertilizers. *Food Chemistry*. 2015;166:507–13.
74. Innocenti M, Gallori S, Giaccherini C, Ieri F, Vincieri FF, Mulinacci N. Evaluation of the phenolic content in the aerial parts of different varieties of *Cichorium intybus* L. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 2005;53(16):6497–502.
75. Massoud I, Amin A, Crops S, Inst R. Chemical and Technological Studies on Chicory (*Cichorium Intybus* L.) and Its Applications in Some Functional Food. *International Journal of Advance Agricultural Research* 2009;14(3):735–56.

## **7. KONFERENCIJŲ TEZĖS**

Fokaitė J., Raudonė L. Paprastųjų trūkazių (*Cichorium intybus* L.) žaliavų fenolinių junginių ir antioksidantinio aktyvumo tyrimas. Tarptautinė mokslinė-praktinė konferencija „Žmogaus ir gamtos sauga 2017“. Gegužės 3-5, 2017. Kaunas, Lietuva.

Fokaitė J. Hidroksicinamono rūgščių kiekio ir antioksidantinio aktyvumo įvairavimas paprastųjų trūkazių (*Cichorium intybus* L.) žolėje. LSMU SMD Jaunųjų mokslininkų ir tyrėjų konferencija. Gegužės 17-19, 2017. Kaunas, Lietuva.