

LIETUVOS SVEIKATOS MOKSLŲ UNIVERSITETAS
FARMACIJOS FAKULTETAS
ANALIZINĖS IR TOKSIKOLOGINĖS CHEMIJOS KATEDRA

EVELINA MARČIUKAITYTĖ

**MAISTO PAPILDŲ SU DAŽINIŲ CIBERŽOLIŲ (*CURCUMA LONGA*
L.) EKSTRAKTU TYRIMAS TAIKANT EFEKTYVIOSIOS SKYSČIŲ
CHROMATOGRAFIJOS (ESC) METODĄ**

Magistro baigiamasis darbas

Darbo vadovas
Doc., dr. Andrejus Ževžikovas

KAUNAS, 2018

LIETUVOS SVEIKATOS MOKSLŲ UNIVERSITETAS
FARMACIJOS FAKULTETAS
ANALIZINĖS IR TOKSIKOLOGINĖS CHEMIJOS KATEDRA

TVIRTINU:

Farmacijos fakulteto dekanė Prof. dr. Ramunė Morkūnienė

Data

**MAISTO PAPILDŲ SU DAŽINIŲ CIBERŽOLIŲ (*CURCUMA LONGA*
L.) EKSTRAKTU TYRIMAS TAIKANT EFEKTYVIOSIOS SKYSČIŲ
CHROMATOGRAFIJOS (ESC) METODĄ**

Magistro baigiamasis darbas

Darbo vadovas
Doc., dr. Andrejus Ževžikovas
Data

Recenzentas
Vardas, pavardė, parašas
Data

Darbą atliko
Magistrantė
Evelina Marčiukaitytė
Data

TURINYS

TURINYS.....	3
SANTRAUKA	5
SUMMARY	6
SANTRUMPOS.....	7
ĮVADAS.....	8
DARBO TIKSLAS IR UŽDAVINIAI.....	9
1. LITERATŪROS APŽVALGA	10
1.1 Dažinės ciberžolės (<i>Curcuma longa</i> L.) paplitimas ir morfologiniai požymiai	10
1.2 Cheminė <i>Curcuma longa</i> L. žaliavos charakteristika ir maistinė vertė.....	11
1.3 Kurkuminoidų fiziko-cheminės savybės	11
1.4 Kurkumino bioprieinamumas	12
1.5 Dažinės ciberžolės biologiškai aktyvių junginių poveikis.....	14
1.5.1 <i>Curcuma longa</i> L. priešūždegiminis veikimas.....	14
1.5.2 <i>Curcuma longa</i> L. antioksidantinis veikimas.....	15
1.5.3. <i>Curcuma longa</i> L. priešvėžinis bei chemoterapinis veikimas	16
1.6 Tyrimo metodai taikomi kurkuminoidų kiekybinėje ir kokybinėje analizėje naudojant <i>Curcuma longa</i> L. ekstraktą.....	17
2. TYRIMO METODIKA.....	18
2.1 Tyrimo objektas	18
2.2 Efektyviosios skysčių chromatografijos metodika	20
2.2.1 Tyrimo metu naudoti reagentai	20
2.2.2 Etaloninio tirpalo paruošimas	20
2.2.3 Mėginių paruošimas analizei	20
2.2.4 Tyrimo metu naudota aparatūra	21
2.2.5 Tyrimo sąlygos.....	22
2.2.6 Kokybinis ir kiekybinis kurkuminoidų įvertinimas <i>Curcuma longa</i> L. ekstraktuose ESC metodu 22	22
3. REZULTATAI IR JŲ APTARIMAS	24
3.1 Ekstrakcijos būdo parinkimas.....	24
3.2 Metodikos validacija.....	25
3.2.1 Metodikos specifiškumas.....	25
3.2.3 Metodikos glaudumas (preciziškumas).....	27

3.2.4 Kurkumino aptikimo ir nustatymo ribos.....	28
3.3 Maisto papildų su dažinių ciberžolių ekstraktu bei dažinių ciberžolių miltelių prieskonio analizės rezultatai	29
3.3.1 Kokybinis maisto papildų su dažinių ciberžolių ekstraktu bei dažinių ciberžolių miltelių prieskonio įvertinimas	29
3.3.2 Kiekybinis maisto papildų su dažinių ciberžolių ekstraktu įvertinimas	30
3.3.3 Maisto papildų su dažinių ciberžolių ekstraktu kokybės įvertinimas	32
3.3.4 Kiekybinis biologiškai aktyvių junginių įvertinimas dažinių ciberžolių šakniastiebių miltelių prieskonyje	34
4. IŠVADOS.....	36
5. PRAKTINĖS REKOMENDACIJOS.....	37
6. LITERATŪROS APŽVALGA	38
7. PRIEDAI.....	43

SANTRAUKA

E. Marčiukaitytės magistro baigiamasis darbas/ mokslinis vadovas doc. dr. Andrejus Ževžikovas; Lietuvos sveikatos mokslų universiteto Farmacijos fakulteto Analizinės ir toksikologinės chemijos katedra. — Kaunas.

Pavadinimas: Maisto papildų su dažinių ciberžolių (*Curcuma longa* L.) ekstraktu tyrimas taikant efektyviosios skysčių chromatografijos (ESC) metodą.

Raktiniai žodžiai: *Curcuma*, ciberžolė, fenoliniai junginiai, kurkuminas, kurkuminoidai, efektyvioji skysčių chromatografija.

Tyrimo objektas ir metodai: šio tyrimo objektas — maisto papildai, sudėtyje turintys dažinių ciberžolių (*Curcuma longa* L.) ekstraktą. Maisto papildų su dažinių ciberžolių ekstraktu kokybinei ir kiekybinei analizei atlikti pasirinktas efektyviosios skysčių chromatografijos (ESC) metodas. Naudota tirpiklių sistema: eliuentas A (0,05 proc. vandeninė trifluoracetinė rūgštis), eliuentas B (100 proc. acetonitrilas). Kolonėlės temperatūra — 25 °C, mobilios fazės tekėjimo greitis 1,0 ml/min. UV detektoriaus šviesos bangos ilgis naudotas kurkumino aptikimui — 420 nm.

Tyrimo tikslas: atlikti Lietuvos ir Lenkijos rinkoje esančių maisto papildų, sudėtyje turinčių dažinių ciberžolių (*Curcuma longa* L.) ekstraktą, biologiškai aktyvių junginių kurkuminoidų kokybinę bei kiekybinę analizę efektyviosios skysčių chromatografijos (ESC) metodu.

Tyrimo uždaviniai: pritaikyti ir validuoti ESC metodiką kurkuminoidų, esančių dažinių ciberžolių ekstrakto, kokybinės ir kiekybinės sudėties tyrimams; nustatyti kokybinę ir kiekybinę kurkuminoidų sudėtį pasirinktuose maisto papilduose, taikant efektyviosios skysčių chromatografijos metodą; palyginti kurkuminoidų sudėtį maisto papilduose bei dažinių ciberžolių šakniastiebių miltelių prieskonyje; palyginti kurkumino kiekį, nustatytą tyrimo metu, su kiekiu, gamintojų deklaruojamu ant pakuotės.

Tyrimo rezultatai ir išvados: atlikus kokybinius maisto papildų ir dažinės ciberžolės prieskonio tyrimus buvo identifikuotas kurkuminas bei demetoksikurkuminas. Atlikus kiekybinį tyrimą nustatyta kiekybinė tiriamųjų mėginių sudėtis. Dviejuose maisto papilduose (MP_2, MP_4) kurkumino kiekis yra didesnis negu dažinės ciberžolės prieskonyje (P). P nustatyta $11\,449,700 \pm 0,02$ µg/g kurkumino, MP_2 – $17\,955,350 \pm 0,01$ µg/g, o MP_4 – $160\,423,500 \pm 0,02$ µg/g. Likusiuose keturiuose maisto papilduose (MP_1, MP_3, MP_5, MP_6) identifikuotas kurkumino kiekis yra mažesnis. Ant dviejų maisto papildų gamintojų deklaruotas kurkumino kiekis sutapo su tyrimo metu gautais rezultatais. Maisto papilde MP_3 deklaruojami 2 mg kurkumino vienoje tabletėje, gauta – 2,3 mg, o maisto papilde MP_4 – 175 mg kurkumino vienoje kapsulėje, gauta – 309 mg. Kadangi MP_4 nustatytas kiekis yra net beveik du kartus didesnis už deklaruojamą, galima daryti prielaidą, jog gamintojai naudojo ne dažinių ciberžolių, o vien kurkumino, ekstraktą.

SUMMARY

The title of the master thesis: The analysis of supplements containing turmeric (*Curcuma longa* L.) extract using high performance liquid chromatography (HPLC) method.

Key words: *Curcuma*, turmeric, phenolic compounds, curcumin, curcuminoids, high performance liquid chromatography.

The object and methods of the research: object of the research – food supplements containing turmeric (*Curcuma longa* L.) extract. The qualitative and quantitative analysis was performed by HPLC method. The mobile phase consisted of eluents: eluent A (0,05 % tri-fluoroacetic acid in water) and eluent B (100 % acetonitrile). Column temperature was 25 °C, the flow rate was 1 mL/min. Curcumin was analyzed using PDA detector at a wavelength of 420 nm.

The aim of the research: to perform qualitative and quantitative analysis of curcuminoids found in supplements (bought in Lithuania and Poland) which contain turmeric (*Curcuma longa* L.) extract using HPLC method.

The objectives of the research: to apply and validate the HPLC method for qualitative and quantitative analysis of bioactive substances found in turmeric extract; to determine the qualitative and quantitative composition of curcuminoids in chosen food supplements using HPLC method; to compare the composition of bioactive substances in food supplements containing turmeric extract and commonly used turmeric spice; to compare the quantity of curcumin determined during the analysis with the quantity specified on the label of the supplements.

The results and conclusions of the research: during qualitative analysis two bioactive substances – curcumin and demethoxycurcumin – were identified. During quantitative analysis the quantity of those substances was determined. In two of the food supplements (MP_2, MP_4) the quantity of curcumin is higher than in the spice of turmeric (P). 11 449,700 ± 0,02 µg/g of curcumin were determined in P, 17 955,350 ± 0,01 µg/g in MP_2 and 160 423,500 ± 0,02 µg/g in MP_4. Two of the supplements had specified amount of curcumin written on the label, after analysis both of them matched that quantity. On the label of MP_3 2 mg of curcumin were written and 2,3 mg were determined during analysis, on the label of MP_4 – 175 mg, after analysis – 309 mg. The quantity of curcumin in MP_4 that we determined was almost two times higher than the one written on the label. This result might suggest that the producers of the supplement used the extract of curcumin instead of the extract of turmeric.

SANTRUMPOS

A β – amiloidas- β

COX-2 – ciklooksigenazė-2

ESC – efektyvioji skysčių chromatografija

FDA – Amerikos maisto ir vaistų agentūra

NF- κ B – branduolio faktoriaus kapa B

R – koreliacijos koeficientas

SSN – santykinis standartinis nuokrypis

UV – ultravioletinės šviesos spinduliuotė

IVADAS

Dažinė ciberžolė (*Curcuma longa* L.) yra indiškas prieskonis, turintis ilgą naudojimo tradicinėje medicinoje bei kulinarijoje istoriją [1]. Ryškios oranžiniai geltonos spalvos milteliai yra paruošiami verdant bei džiovinant augalo šakniastiebius [2]. Nuo seno Azijos šalyse, daugiausiai Indijoje, dažinių ciberžolių milteliai buvo naudojami kaip vienas pagrindinių prieskonių [3, 4]. Daugelį metų kurkumos milteliai pasauliui buvo žinomi vien dėl savo gebėjimo išsaugoti, konservuoti (antioksidantinis mechanizmas) maistą bei suteikti jam spalvą ir skonį [3]. Taip pat ciberžolė yra viena iš pagrindinių populiaro patiekalo indiškojo kario sudedamųjų dalių [4, 5].

Iki šiol maisto industrijoje dažinė ciberžolė naudojama kaip priedas, kvapioji medžiaga, konservantas, dažiklis (pvz.: garstyčiose, margarine, gaiviuosiuose gėrimuose) [6]. Tarptautinėje konservantų numeravimo sistemoje kurkuma yra įrašyta kaip saugus dažiklis ir pavadinta E100 [6].

Jau nuo 4000 m. pr. Kr. dažinė ciberžolė buvo naudojama kaip tradicinės medicinos priemonė, ypač Azijoje [7]. Ajurvedinėje medicinoje ciberžolė naudota gydyti tokiems uždegiminiams susirgimams kaip dujų atsiradimas virškinamajame trakte, kolitas, dantų, krūtinės, menstruacinis skausmas ir kiti [2, 3]. Tradicinėje kinų medicinoje daugybę metų kurkumos milteliai naudoti kaip stimulantai, aspirantai, karminatyvinė, diuretinė, sutraukianti priemonė [2]. Taip pat užfiksuota, jog dažinė ciberžolė tradicinėje medicinoje naudojama ir reumatizmo, kūno skausmo, odos ligų, kirminų, diarėjos, aukštos temperatūros, kepenų ligų, dispepsijos bei konstipacijos gydymui [8].

Dažinės ciberžolės svarba medicinoje drastiškai pasikeitė mokslininkams atradus jos bioaktyvių junginių kurkuminoidų antioksidantinį bei priešuždegiminį veikimus [9]. Taip pat ir dėl farmakologinio veiksmingumo bei saugumo ciberžolė su savo bioaktyviais junginiais mokslininkų akyse tapo potencialia priemone įvairių žmogaus ligų gydymui bei prevencijai [10]. Amerikos maisto ir vaistų administracija (angl. FDA) dažinę ciberžolę yra pripažinusi kaip saugią medžiagą [4].

Šiuo metu natūralios, augalinės priemonės yra žmonių ligų gydymo pagrindas [5]. Net 80 proc. žmonių, gyvenančių sparčiai besivystančiose šalyse, lig šiol pasitiki ir teikia pirmenybę tradicinei medicinai, paremtai augalinių vaistinių preparatų vartojimu, todėl augalinių preparatų populiarumas bei paklausa ir toliau didėja [5]. Žmonės vis dažniau maisto papildus vartoja ne vien papildyti mitybai, bet ir derindami su vaistais, siekdami sumažinti tam tikrų ligų simptomus bei progresavimą [11]. Dėl daugybės sėkmingai mokslininkų atliekamų tyrimų dažinė ciberžolė yra vienas iš populiariausių maisto papildų šiuometinėje rinkoje. Kadangi ciberžolės veiksmingumas priklauso nuo biologiškai aktyvių junginių svarbu ištirti jų kiekį maisto papilde.

DARBO TIKSLAS IR UŽDAVINIAI

Tyrimo tikslas – atlikti Lietuvos ir Lenkijos rinkoje esančių maisto papildų, sudėtyje turinčių dažinių ciberžolių (*Curcuma longa* L.) ekstraktą, biologiškai aktyvių junginių kurkuminoidų kokybinę bei kiekybinę analizę efektyviosios skysčių chromatografijos (ESC) metodu.

Darbo uždaviniai:

1. Pritaikyti ir validuoti ESC metodiką kurkuminoidų, esančių dažinių ciberžolių ekstrakto, kokybinės ir kiekybinės sudėties tyrimams.
2. Nustatyti kokybinę ir kiekybinę kurkuminoidų sudėtį pasirinktuose maisto papilduose, taikant ESC metodą.
3. Palyginti kurkuminoidų sudėties įvairumą maisto papilduose bei dažinių ciberžolių šakniastiebių miltelių prieskonyje.
4. Palyginti kurkumino kiekį, nustatytą tyrimo metu, su kiekiu, maisto papildų gamintojų deklaruojamu ant pakuotės.

1. LITERATŪROS APŽVALGA

1.1 Dažinės ciberžolės (*Curcuma longa* L.) paplitimas ir morfologiniai požymiai

Dažinė ciberžolė (*Curcuma longa* L.), dar vadinama indiškuoju šafranu bei kurkuma, yra augalo rūšis, kilusi iš imbierinių (*Zingiberaceae*) šeimos, ciberžolių (*Curcuma*) genties (1 pav.) [12]. Ji plačiai kultivuojama Indijoje, Kinijoje bei kitose šalyse, kuriose vyrauja tropinis klimatas [12]. Indija yra didžiausias dažinės ciberžolės tiekėjas – ji patenkina net virš 90 procentų pasaulio kurkumos paklausos [13]. Dažinė ciberžolė gali būti auginama įvairiose tropinėse sąlygose bei aukštyje: tiek jūros lygyje, tiek iki 1500 metrų virš jūros lygio [14]. Kad vešėtų ir gerai augtų, augalui reikalingas lengvai nusausėjantis, smėlingas ar molingas dirvožemis, 20 – 30 °C temperatūra bei didelis metinis kritulių kiekis [14]. Kasmet augalai yra surenkami dėl savo šakniastiebių, iš kurių vėl būna pasėjami iš naujo kitą sezoną (1 pav.) [15].

Dažinė ciberžolė yra daugiametis žolinis augalas, turintis didelius, pailgus, smailėjančius lapus bei trumpą stiebą [16]. Žiedai – geltoni, 10-15 cm ilgio, žiedkotis – 15 cm ilgio, pridengtas lapkočiu [13]. Kai augalas pradeda žydėti, jo pažiedis iš šviesiai žalio tampa violetinis [13]. Dažniausiai kurkuma auga iki 90 – 100 cm aukščio [12]. Daugiausiai naudojama ciberžolės dalis yra šakniastiebiai [12]. Jie yra mėsingi, gumbuoti, turi daug šoninių šakelių bei šiurkščią odą [15]. Šakniastiebiai turi smailią formą, yra 2,5 – 7,0 cm ilgio bei 2,5 cm pločio [15]. Jie yra subrandinami po lapija, žemėje [15]. Paprastai šakniastiebių išorinė spalva būna geltonai ruda, o vidinė – oranžinė [15]. Jie pasižymi aromatingu kvapu bei šildančiu, šiek tiek karčiu skoniu [13].



1 pav. Dažinė ciberžolė (*Curcuma longa* L.) ir jos šakniastiebiai

1.2 Cheminė *Curcuma longa* L. žaliavos charakteristika ir maistinė vertė

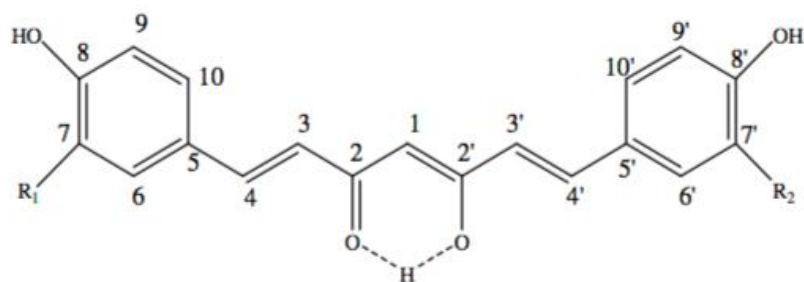
Įvairių cheminių analizių duomenimis dažinių ciberžolių milteliuose yra 6,3 proc. baltymų, 5,1 proc. riebalų, 3,5 proc. mineralų, 69,4 proc. angliavandenių bei 13,1 proc. drėgmės [17]. Iki šių dienų dažinėje ciberžolėje yra identifikuota virš 235 junginių [2]. Jų daugumą sudaro fenoliniai junginiai ir terpenoidai: diarilheptanoidai, dažniausiai vadinami kurkuminoidais, monoterenai, seksiterpenai, diterpenai, triterpenoidai, alkaloidai, steroliai ir t.t. [2]. Šakniastiebyje taip pat gausu aliejų, cukrų, baltymų, ligninų bei dervų [15]. Taip pat ciberžolė yra gausus žmogaus organizmui svarbių vitaminų A, E ir C šaltinis [15]. Dažinėje ciberžolėje randamuose eteriniuose aliejuose yra daug skirtingų molekulių, turinčių eilę skirtingų farmakologinių savybių [18]. Pagrindiniai eterinių aliejų, esančių šakniastiebiuose, komponentai yra seksiterpenai: turmeronas (26,2-31,5 proc.), kurlonas (18,6-20,48 proc.) bei ar-turmeronas (19,1-23,94 proc.) [18]. Eterinius aliejus, esančius lapuose bei žieduose, sudaro monoterenai: terpenolinas, cineolas, β -felandrenas ir kiti [19].

Dėl savo veikimo daugiausiai dėmesio yra sulaukę kurkuminoidai, kurie sudaro 3-5 proc. ciberžolės šakniastiebio junginių [2]. Tai cheminiai junginiai, turintys aril-C7-aril anglies atomų skeletą ir priklausantys natūraliems fenoliams [2]. Trys pagrindiniai kurkuminoidai yra kurkuminas (kurkuminas I), demetoksikurkuminas (kurkuminas II) ir bismetoksikurkuminas (kurkuminas III) [3, 17]. Svarbu paminėti, jog komerciškai tiekiamas "kurkuminas" nėra grynas, dažniausiai tai yra kurkuminoidų mišinys – ~77 proc. kurkumino, ~17 proc. demetoksikurkumino ir ~3 proc. bismetoksikurkumino [6].

Taip pat dažinė ciberžolė pasižymi puikia maistine verte [20]. Mokslininkų atliktos maistinės vertės analizės duomenys parodė, jog 100 g dažinės ciberžolės yra: 6 gr. drėgmės, 8,5 gr. baltymų, 8,9 gr. riebalų, 69,9 gr. angliavandenių, 0,2 gr. kalcio, 260 mg fosforo, 10 mg natrio, 2 500 mg kalio, 250 mg geležies, 0,09 mg riboflavino, 4,8 mg niacino, 50 mg askorbo rūgšties, o energetinė vertė – 390 kcal [20]. Ciberžolė laikoma dar ir geru ω -3 sočiųjų rūgščių bei α -linoleninės rūgšties šaltiniu [15].

1.3 Kurkuminoidų fiziko-cheminės savybės

Kurkuminoidai savo grynoje formoje išsiskiria kaip oranžiniai-geltoni kristaliniai milteliai [18]. Junginiai pasižymi charakteringu kvapu bei skoniu [3]. Šie junginiai yra geltonos spalvos pigmentai, ciberžolei suteikiantys jos išskirtinę spalvą [3]. Kurkuminoidai iš prigimties yra netirpūs vandenyje [3]. Laisvai jie tirpsta dimetilsulfoksido, acetone, etanolyje bei aliejuose [3, 18]. Kurkuminoidų cheminė struktūra yra pavaizduota 2 paveiksle [21].



Junginys	R ₁	R ₂
Kurkuminas	OMe	OMe
Demetoksikurkuminas	H	OMe
Bisdemetoksikurkuminas	H	H

2 pav. Cheminė kurkuminoidų struktūra. Modifikuota iš Simay Çıkrıkçı ir kiti (2008) [8]

Cheminis kurkumino pavadinimas yra 1,7-bis-(4-hidroksi-3-metoksifenil)-hepta-1,6-dien-3,5-dionas arba diferuloilmetanas; cheminė formulė – C₂₁H₂₀O₆ [17]. Kurkuminas lydosi prie 184 °C temperatūros, o jo pKa – 8,54 [21, 22]. Maksimali kurkumino absorbcija (λ_{\max}) vyksta prie 430 nm metanolyje ir prie 420 nm acetone [22].

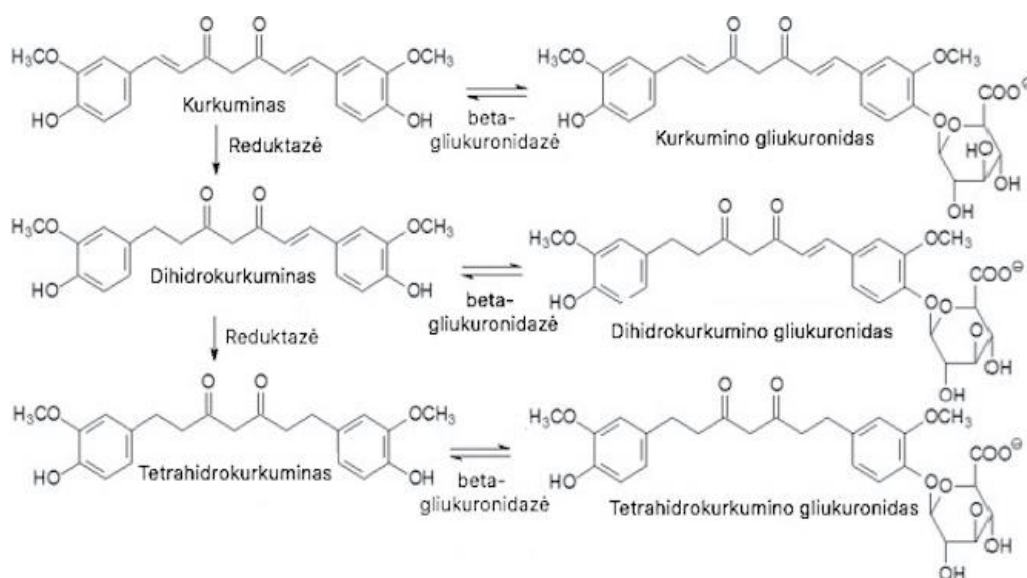
Tirpaluose kurkuminas egzistuoja kaip keto-enolinis tautomeras [21]. Enolinė forma turi tris jonizuojamus protonus – enolinę grupę ir dvi fenolines grupes [17]. Kietos fazės rūgščioje bei neutralioje terpėse dominuoja kurkumino keto forma, tad jis veikia kaip stiprus vandenilio atomų donoras [17]. Šarminėje aplinkoje dominuoja enolinė kurkumino forma [4]. Tai, kad tirpaluose kurkuminas daugiausiai randamas savo enolinėje formoje, yra svarbu jo gebėjimui surinkti laisvuosius radikalus [23].

1.4 Kurkumino metabolizmas ir bioprieinamumas

Kurkuminas yra saugus bei veiksmingas bioaktyvus junginys, vienintelė jo problema – prastas bioprieinamumas [10]. Taip yra dėl blogos kurkumino absorbcijos bei greito jo metabolizmo žmogaus organizme [10].

Žarnose bei kepenyse kurkuminas yra greitai metabolizuojamas [24]. Ilgą laiką buvo manyta, jog daugiausiai kurkuminoidai metabolizuojami būtent kepenyse, tačiau vėliau mokslininkų atlikto tyrimo rezultatai parodė, kad virškinamasis traktas taip pat dalyvauja kurkuminoidų gliukuridacijoje – pirmos eilės metabolizme – ir taip prisideda prie itin greito šių junginių metabolizmo [25].

Kurkumino metabolizmas (pavaizduotas 3 paveiksle) prasideda veikiant fermentui reduktazei [24]. Kurkuminas metabolizuojamas iki di-, tetra-, hekso- bei oktahidrokurkuminoidų [24]. Tuomet jie, veikiami beta-gliukuronidazės, konvertuojami į mono-gliukuronido konjugatus [24]. Vėliau šie junginiai tampa sulfatais bei hidrofilišiais junginiais ir yra šalinami per tulžies pūslę ir šlapimą [24]. Kurkumino, dihidrokurkumino bei tetrahidrokurkumino gliukuronidai, taip pat tetrahidrokurkuminas, yra pagrindiniai kurkumino metabolitai *in vivo* [24].



3 pav. Per burną vartojamo kurkumino metabolizmo kelias. Modifikuota iš Ralf Jäger ir kiti (2014) [28]

Dėl šio greito metabolinio pasikeitimo kepenyse bei žarnyno sienelėje, kurkumino koncentracija kraujyje yra žema, o pasiskirstymas audiniuose ribotas, vartojant kurkuminą peroraliai [24]. Net suvartojus aukštą 10-12 gr. kurkumino dozę, maksimali žmogaus plazmos koncentracija išlieka žemame nanomoliniame diapozone – <160 nmol/l [26].

Prastas kurkumino tirpumas dėl jo hidrofobiškumo bei polinkio sąveikauti su lipidinėmis membranomis yra vienas pagrindinių barjerų iki gero jo bioprieinamumo bei klinikinio pajėgumo [27]. Siekiant padidinti tirpumą ir bioprieinamumą kurkuminą bandyta inkapsuluoti į liposomas, polimerines nanodaleles, biodegraduojančias mikrosferas, ciklodekstriną ir hidrogelius [27, 28]. Tyrimai susilaukė teigiamų rezultatų ir yra toliau tęsiami, siekiant tobulinti naujas kurkumino vartojimo formas. [27]

Vienas iš natūralių būdų prailginti kurkumino bioprieinamumą yra jo vartojimo derinimas kartu su piperinu – vienu pagrindinių juodųjų pipirų komponentu [29]. Piperinas yra žinomas kaip kepenų bei žarnyno gliukuronidacijos inhibitorius [29]. Kurkuminą bei piperiną peroraliai vartojant kartu, kurkumino bioprieinamumas per 45 minutes padidėja iki 2 000 proc. [29]. Taip pat vartojant šį junginių derinį padidėja kurkumino absorbcija žarnyne bei jis ilgiau išlieka pasiskirstęs kūno audiniuose [30].

1.5 Dažinės ciberžolės biologiškai aktyvių junginių kurkuminoidų poveikis

Žinoma, jog uždegiminis procesas yra neatsiejama žmogaus kūno fiziologijos dalis, nes ūminis uždegimas atsiranda ginantis nuo patogenų [6, 31]. Atvirkščiai negu ūminis, lėtinis uždegimas yra žemesnio lygio uždegimas, kuris gali išlikti net 20-30 metų, kol galiausiai iš jo išsivystys vėžys ar kitos lėtinės ligos [31]. Uždegimą skatinantys faktoriai gali būti išoriniai – aplinkos tarša, virusai, bakterijos, maistas, stresas ir t.t. [2]. Pagrindinės vidinių prouždegiminių faktorių molekulės, atsakingos už uždegiminio proceso valdymą, yra laisvieji radikalai, IL-1 β , TNF- α , NF- κ B ir NSAID-aktyvuojamas genas-1 (NAG-1) [1, 31, 32]. Šios molekulės priklauso normaliam ląstelių reguliavimo procesui, tačiau jų nekontroliuojant bei esant per dideliu poveikiui, atsiranda lėtinės ligos [6]. Daugelis vėžio rūšių išsivysto iš uždegiminių susirgimų, lėtinio dirginimo bei infekcijų [6].

Kadangi kurkuminas ir kiti kurkuminoidai yra stiprūs prieš uždegiminius agentai bei antioksidantai jie yra tinkami gydyti daugybę lėtinių, uždegiminių ligų bei susirgimų (pvz.: diabetas, astma, alergijos, artritas, aterosklerozė, neurodegeneracinės ligos ir t.t.) [33]. Taip pat šiuo metu yra vykdoma daugybė tyrimų siekiant įrodyti kurkumino tinkamumą gydyti vėžiui.

1.5.1 *Curcuma longa* L. prieš uždegiminis veikimas

Daugybės tyrimų duomenimis įrodyta, jog kurkuminoidai yra stiprūs prieš uždegiminius agentai [34]. Jie veikia kelių skirtingų mechanizmų pagalba: slopina branduolio faktoriaus kappa B – NF κ B (angl. *Nuclear factor kapa B*) aktyvaciją, inhibuoja ciklooksigenazę 2 (COX-2), reguliuoja ląstelių proliferacijos, antiapoptozės bei metastazinių genų produktų ekspresiją [34]. Taip pat kurkuminoidai pasižymi tokių imuninių ląstelių kaip T, B, makrofagų, neutrofilų, natūraliųjų žudikų – NK (angl. *natural killer*) bei dendritinių ląstelių atsako proliferacijos moduliavimu [34].

Nustatyta, jog šių dažinės ciberžolės biologiškai aktyvių junginių prieš uždegiminis veikimas yra stiprus gydant karagenino bei kaolino sukeltas edemas, formalino sukeltą artritą [13]. Vieno tyrimo metu kurkuminą taikant reumatoidinio artrito gydymui jau po dviejų savaičių pastebėtas teigiamas efektas, panašus kaip gydant fenilbetametazonu, bei nebūta jokių nepageidaujamų reakcijų [35].

Taip pat nustatyta, jog dažinių ciberžolių ekstraktas palengvina osteoartrito simptomus, ypač pacientams sergantiems nekomplikuotu kelių osteoartritu, sumažėja sąnarių jautrumas, skausmas, pagerėja žmogaus fizinė funkcija [36, 37].

Kadangi uždegiminis procesas dominuoja ir Alzheimerio ligos eigoje mokslininkai atliko klinikinį šešių mėnesių trukmės atsitiktinių imčių placebo tyrimą aiškindamiesi kaip kurkuminas veikia su pacientais sergančiais šia liga [38]. Sumažėjęs amiloido- β (A β) klirensas iš smegenų į kraujotaką yra

vienas pagrindinių sutrikimų, sergant Alzheimerio liga – tyrimo metu užfiksuota, jog kurkuminas sumažino A β agregaciją, todėl A β serumo koncentracija padidėjo [38, 39]. Pastebėta, jog užtektina kurkumino dozė yra 1 g, nes grupėje naudojusioje 4 g didelio koncentracijos skirtumo kraujyje nebuvo [38]. Mokslininkai mano, jog kurkuminas gali padėti sulėtinti Alzheimerio ligos progresavimą, ypač kognityvinių funkcijų prastėjimo greitį, tačiau tam reikia tolimesnių tyrimų [38].

1.5.2 *Curcuma longa* L. antioksidantinis veikimas

Kurkuminas yra efektyvus antioksidantas, gebantis surinkti laisvuosius superoksido, vandenilio peroksido bei azoto monoksido radikalus iš aktyvuotų makrofagų [40]. Taip jis bei kiti dažinėje ciberžolėje esantys kurkuminoidai apsaugo organizmą nuo laisvųjų radikalų patogeniškumo pasekmių: organizmo senėjimo bei pagrindinių lėtinių degeneracinių su amžiumi susijusių ligų skatinimo [41]. Būtent fenolinių grupių buvimu struktūroje aiškinamas kurkumino gebėjimas eliminuoti šiuos laisvuosius radikalus, atsakingus ir už riebalinėse ląstelėse vykstančią peroksidaciją – vieną iš pagrindinių daugelio ligų atsiradimo bei progresavimo procesų [42]. Kurkuminas mokslininkų vadinamas daugiafunkciniu antioksidantu, nes geba reaguoti tiesiogiai į reaktyvias junginių rūšis ir padidina įvairių citoprotektinių bei antioksidacinių baltymų jautrumą [43].

Kurkuminas yra ypač tinkamas aterosklerozės gydymui [42]. Vieno tyrimo metu bandomųjų triušių, turinčių aukštą cholesterolio kiekį, mityba buvo papildyta dažinių ciberžolių ekstraktu – organizme sumažėjo oksidacinis stresas bei riebalinių nuosėdų sankaupos arterijų viduje [42]. Dėl savo antioksidacinio veikimo kurkuminas demonstruoja ir antimutagenines bei antikarcinogenines savybes [43].

Mokslininkai mano, jog kurkuminas lėtina Alzheimerio ligos progresavimą mažindamas oksidaciją, sukeltą smegenyse įvairių šios ligos procesų metu [38]. Taip pat kurkuminas padidino vitamino E koncentraciją, kuri būna sumažėjusi sergančiųjų Alzheimeriu organizme [38, 39].

Kitame dviejų savaičių trukmės tyrime buvo išsiaiškinta, jog 15-30 mg/kg/d kurkumino apsaugo nuo streptozotocino sukeltos diabetinės neuropatijos bei oksidacinio streso [43]. Ištirta, jog kurkuminas padeda efektyviai išvengti gliukozės sukulto oksidacinio streso diabetu sergančių gyvūnų endotelinėse ląstelėse bei širdyje [44].

1.5.3 *Curcuma longa* L. priešvėžinis bei chemoterapinis veikimas

Nors kurkuminas yra prastai absorbuojamas organizme, daugybės tyrimų duomenimis teigiama, jog net mažų šio biologiškai aktyvaus junginio kiekių užtenka pasireikšti jo priešvėžiniam ir chemoterapiniam veikimui, todėl dabar mokslininkai skiria daug dėmesio šio junginio tyrinėjimui [45]. Prie tumorogenezės inhibavimo prisideda įvairių kurkumino mechanizmų derinys – įskaitant priešuždegiminį, antioksidantinį, imunomoduliacinį, proapoptotinį, antiangiogeninį – kuris turi pleiotropinį poveikį genams ir ląstelių signalizacijos keliams net keliuose skirtinguose lygmenyse [45].

Atvirkščiai nei normaliose, plaučių vėžio ląstelėse ribonukleoproteinas telomerazė yra reaktyvuotas, todėl sėkmingas taikymas į jį natūraliomis veikliosiomis medžiagomis tokiomis kaip kurkuminas turi potencialiai didelę svarbą plaučių vėžio gydymo tobulinimui [46]. Buvo atliktas tyrimas, kurio metu stebėtas telomerazę A549 plaučių vėžio ląstelių linijoje, kaip *in vitro* modelyje, slopinantis *Curcuma longa* L. ekstrakto poveikis [46]. Duomenų analizė parodė, jog *Curcuma longa* L. n-heksano ekstraktas turi nuo dozės priklausantį citotoksinį poveikį A549 plaučių vėžio ląstelėms ir taip pat slopina telomerazės veiklą priklausomai nuo dozės [46].

Ne vieno tyrimo duomenimis patvirtintas ir didelis kurkumino potencialumas jį taikyti kasos vėžio gydyme [47]. *In vitro* tyrimas parodė kurkumino gebėjimą inhibuoti proliferazę bei sustiprinti žmogaus kasos karcinomos MIA PaCa-2 ląstelių apoptozę [47]. Laikui bėgant, žmogaus organizmas palaipsniui tampa atsparus pagrindiniam kasos vėžio gydymo vaistui – gemcitabinui, tad yra reikalingi agentai, kurie pastiprintų jo veikimą ar padėtų įveikti chemorezistentiškumą [48]. Vykdytas tyrimas su kurkuminu parodė, jog kombinacinė kurkumino-gemcitabino terapija itin veiksmingai slopina angiogenezę, proliferaciją bei NF- κ B aktyvaciją [48].

Kurkuminas taip pat yra tinkamas storosios žarnos vėžio gydymui bei chemoprevecijai [49]. Per didelę COX-2 ekspresija pastebima net 90 proc. sporadinių storosios žarnos karcinomų bei 40 proc. storosios žarnos adenomų atvejų [49]. Kurkuminas inhibuoja COX-2 ekspresiją bei veikimą, taip mažindamas prostaglandinų sintezę bei vėžio ląstelių augimą storajoje žarnoje [17]. Taip pat jis sinergistiškai veikia su chemoterapiniais agentais, kurie inhibuoja storosios žarnos vėžio ląstelių augimą [49]. Klinikinių tyrimų duomenimis kurkuminas yra saugus, o sergantieji storosios žarnos vėžiu jį gerai toleruoja aukštomis, 8 mg per dieną, dozėmis [49]. Po trijų mėnesių kurkumino vartojimo daugiau nei trečdaliui tiriamųjų pasireiškė histologiniai pagerėjimai [49]. Visgi dėl savo prasto bioprieinamumo įprastine forma pateiktas kurkuminas nėra tinkamas gydyti giliau virškinamajame trakte esančias metastazes [49].

1.6 Tyrimo metodai taikomi kurkuminoidų kiekybinėje ir kokybinėje analizėje naudojant *Curcuma longa* L. ekstraktą

Dažniausiai kurkuminoidus analizuoti yra naudojami spektrofotometrijos, plonasluoksnės skysčių chromatografijos, efektyviosios skysčių chromatografijos bei ultra efektyviosios skysčių chromatografijos metodai [50, 51].

Šiuo metu yra naudojama daug skirtingų metodų kiekybinei kurkuminoidų analizei [52]. Dauguma iš jų yra spektrofotometriniai metodai, tačiau juose pastebėti trūkumai: nepavyksta analizuoti individualių kurkuminoidų bei jų tikslumas nėra labai geras, nes ekstrakto yra ir kitų pigmentų [52]. Dėl to buvo atkreiptas dėmesys į plonasluoksnės chromatografijos metodus [52]. Mokslininkai išvystė tokį densitometrinių plonasluoksnės chromatografijos metodą, kuris suteikia galimybę vienu metu kiekybiškai įvertinti kurkuminą, demetoksikurkimą ir bisdemetoksikurkimą *Curcuma longa* L. milteliuose [52, 53, 54]. Taip pat kurkuminoidų atskyrimui paprastas ir efektyvus plonasluoksnės chromatografijos metodas yra naudojant vandenilio fosfatą impregnuotas silikagelio plokšteles [55]. Mokslininkai dažnai derina kelis metodus: kokybiškai kurkuminoidus vertina plonasluoksnės chromatografijos būdu, o kiekybiškai – efektyviają skysčių chromatografiją [50].

Efektyvioji skysčių chromatografija yra gerai žinoma dėl savo didelio efektyvumo bei greitos komponentų separacijos [51]. Nustatyta, jog efektyviosios skysčių chromatografijos metodas yra jautrus ir tikslus kokybiniam ir kiekybiniam kurkuminoidų nustatymui dažinių ciberžolių milteliuose [50]. ESC metodas derinamas su įvairiais detektoriais pakeitė spektrofotometrijos metodus [55]. ESC dažnai derinama su masių spektrometrija, ampetometrija, UV absorbcija [55].

ESC su masių spektrometrijos detektoriumi yra labai jautrus ir turi pranašumų prieš kitus metodus, ypač norint gauti informaciją apie analizių struktūras [51]. Visgi šis metodas nėra toks populiarus ir dažnai naudojamas, nes reikalauja mėginio nebulizacijos, garinimo, jonizavimo bei brangių aparatų, kurių neturi daugelis laboratorijų [51].

ESC derinama su UV detekcija yra daugiausiai naudojamas metodas kurkuminoidų nustatymui dažinėse ciberžolėse [55]. ESC-UV yra metodas, kuris leidžia tuo pat metu nustatyti visus tris kurkuminoidus komerciniuose kurkumos milteliuose [51]. Jis rekomenduojamas įprastai atliekamai dažinių ciberžolių ekstrakto kokybės analizei, yra paprastas, jautrus bei tikslus [51]. Iš pradžių mokslininkų buvo išvystyta metodika naudojant aminopropilo bei silpnų katijonų mainų kolonėlę [55]. Vėliau kurkuminoidų atskyrimas gerintas ant oktadecil silikagelio kolonėlės naudojant gradientinę vandens-tetrahidrofurano sistemą [55]. Po to buvo išvystyta ESC-UV metodika su gradientiniu eliuavimu, veikiant metanolio, acetinės rūgšties ir acetonitrilo tirpikliams, kuri dabar yra populiariausia [55].

2. TYRIMO METODIKA

2.1 Tyrimo objektas

Šio tyrimo objektas — maisto papildai, sudėtyje turintys dažinių ciberžolių (*Curcuma longa* L.) ekstraktą.

Tirti 6 maisto papildai, esantys Lietuvos ir Lenkijos rinkoje, bei dažinių ciberžolių šakniastiebių miltelių prieskoniai, randami maisto prekių parduotuvėse:

- MP_1 (Gaminamas Prancūzijoje, parduodamas Lenkijoje ir Lietuvoje);
- MP_2 (Gaminamas JAV, parduodamas Lietuvoje);
- MP_3 (Gaminamas Prancūzijoje, parduodamas Lenkijoje ir Lietuvoje);
- MP_4 (Gaminamas ir parduodamas Lenkijoje);
- MP_5 (Gaminamas Norvegijoje, parduodamas Lietuvoje)
- MP_6 (Gaminamas Prancūzijoje, parduodamas Lietuvoje)
- P (Ciberžolė malta, gaminama Austrijoje, parduodama Lietuvoje)

1 lentelė. Tiriamųjų maisto papildų su Curcuma longa L. ekstraktu kokybinė sudėtis, nurodyta gamintojų

Tiriamasis objektas	Sudėtis
MP_1	Mikrokristalinė celiuliozė, kvapiųjų rozmarinų (<i>Rosmarinus officinalis</i> L.) koncentruotas lapų ekstraktas ir lapų milteliai, daržovinių artišokų (<i>Cynara scolymus</i> L.) koncentruotas lapų ekstraktas ir lapų milteliai, trikalčio fosfatas, hidroksipropilmetilceliuliozė, mentolis, polivinilpolipirolidonas, Meriva patentuotas kompleksas - dažinių ciberžolių (<i>Curcuma longa</i> L.) šakniastiebių sausasis ekstraktas su 40 proc. sojos pupelių fosfolipidų , magnio stearatas, silicio dioksidas, mikrokristalinė celiuliozė, pipirmėčių (<i>Mentha piperita</i> L.) eterinis granuluotas aliejus 24 proc., stearino rūgštis, chlorofilinų vario kompleksai.
MP_2	Dažinių ciberžolių (<i>Curcuma longa</i> L.) šakniastiebių miltelių ekstraktas , magnio stearatas.

MP_3	Mikrokristalinė celiuliozė ir dikalcio fosfatas, tikrųjų margainių (<i>Silybum marianum</i> L.) sėklų granuluotas sausasis ekstraktas, pipirmėčių (<i>Mentha piperita</i> L.) granuluotas eterinis aliejus, trikalcio fosfatas, dažinių ciberžolių (<i>Curcuma longa</i> L.) granuluotas šakniastiebių sausasis ekstraktas , hidroksipropilmetilceliuliozė, magnio stearatas, mikrokristalinė celiuliozė, stearino rūgštis, chlorofilinų vario kompleksas, silicio dioksidas.
MP_4	Dažinių ciberžolių (<i>Curcuma longa</i> L.) šakniastiebių sausasis ekstraktas , juodųjų pipirų (<i>Piper nigrum</i> L.) uogų ekstraktas.
MP_5	Kalcio karbonatas, dikalcio fosfatas, mikrokristalinė celiuliozė, magnio oksidas, valgomųjų česnakų (<i>Allium sativum</i> L.) ekstr., L-askorbo rūgštis, vanduo, karčiavaisių citrinmedžių (<i>Citrus aurantium</i> L.) vaisių ekstr., dažinių ciberžolių (<i>Curcuma longa</i> L.) šakniastiebių ekstr. , skersinio ryšio natrio karboksimetilceliuliozė, didžiųjų dilgėlių (<i>Urtica dioica</i> L.) lapų ekstr., mėlynių (<i>Vaccinium myrtillus</i> L.) uogų ekstr., kininių citrinvyčių (<i>Schisandra chinensis</i> (Turcz.) Baill.) vaisių ekstr., dirvinių asiūklių (<i>Equisetum arvense</i> L.) žolės ekstr., vaistinių ožragių (<i>Trigonella feonum-graecum</i> L.) sėklų ekstr., DL-alfa-tokoferilacetatas, cinko oksidas, stambiauogių spanguolių (<i>Oxycoccus macrocarpus</i> (Ait.) Pers.) uogų ekstr., geležies fumaratas, riebalų rūgščių magnio druskos, tikrųjų imbierų (<i>Zingiber officinale</i> Roscoe) šakniastiebių ekstr., vienamečių paprikų (<i>Capsicum annuum</i> L.) vaisių ekstr., paprastųjų moliūgų (<i>Cucurbita pepo</i> L.) sėklų ekstr., nikotinamidas, tikrųjų vynmedžių (<i>Vitis vinifera</i> L.) sėklų ekstr., hidroksipropilmetilceliuliozė, natrio selenitas, retinilo acetatas, mangano sulfatas, vario sulfatas, kalcio D-pantotenatas, piridoksino hidrokloridas, cianokobalaminas, riboflavinas, cholekalciferolis, chromo (III) chloridas, pteroilmonoglutamato rūgštis, kalio jodidas, tiamino mononitratas, D-biotinas.
MP_6	Augalinio gliukozamino milteliai, dažinių ciberžolių (<i>Curcuma longa</i> L.) šakniastiebių ekstraktas , asiūklių (<i>Equisetum arvense</i> L.) antžeminės dalies ekstraktas, bulvių krakmolos.
P	Dažinių ciberžolių šakniastiebių miltelių prieskonis.

2.2 Efektyviosios skysčių chromatografijos metodika

2.2.1 Tyrimo metu naudoti reagentai

Visi šiame tyrime naudoti reagentai, standartai bei tirpikliai yra analitinio švarumo bei atitinka šioms medžiagoms keliamus kokybės reikalavimus.

Tyrimams buvo naudojami šie reagentai:

- Kurkuminas (≥ 98.0 proc., Sigma-Aldrich, Vokietija);
- Acetonitrilas ($\geq 99,9$ proc., Sigma-Aldrich, Vokietija);
- Metanolis ($\geq 99,8$ proc., Sigma-Aldrich, Vokietija);
- Dichlormetanas (≥ 99.8 proc., Sigma-Aldrich, Vokietija);
- Heksanas (≥ 95 proc., Sigma-Aldrich, Vokietija);
- Trifluoroacto rūgštis (≥ 99.0 proc., Sigma-Aldrich, Vokietija);
- Dejonizuotas vanduo, paruoštas išgryninto vandens paruošimo sistema „Millipore“ (JAV).

2.2.2 Etaloninio tirpalo paruošimas

Etaloninis tirpalas buvo ruoštas iš standartizuoto kurkumino (≥ 98.0 proc., Sigma-Aldrich, Vokietija) jį tirpinant metanolyje. 0,00178 gr. kurkumino užpilta metanoliu iki 10 ml kolbutės žymės. Užkimšus kolbutę maišyta ultragarso vonelėje. Pradinė tirpalo koncentracija buvo 178 $\mu\text{g/ml}$.

2.2.3 Mėginių paruošimas analizei

Tiriamieji tirpalai ruošti iš Lietuvos bei Lenkijos rinkose parduodamų maisto papildų, kurių sudėtyje yra dažinių ciberžolių (*Curcuma longa* L.) šakniastiebių ekstrakto. Siekiant rezultatų tikslumo mėginiams ruošti buvo pasirinkti du ekstrakcijos būdai. Taip pat buvo paruošti du mėginiai iš parduotuvėje pirktų dažinių ciberžolių šakniastiebių miltelių prieskonio, siekiant palyginti kurkuminoidų kiekį maisto papildu formoje bei kasdien žmogui lengvai naudojamose prieskonio formoje.

2.2.3.1 Mėginių paruošimas analizei naudojant dichlormetaną

Vienos kapsulės ar tabletės turinys suberiamas į apvaliadugnę kolbą ir užpilamas 10 ml dichlormetano. Kolbos turinys maišomas magnetiniu maišytuvu. Mišinys kaitinamas refluksiniu šildytuvu 1 val. 50 °C temperatūroje. Tirpalas centrifuguojamas 10 min prie 4000 RMP apsisukimų. Po to rotaciniu išgarintoju tirpalas sukoncentruojamas. Gaunamas tamsiai oranžinis skystis, kurio nusodinimui užpilama 5 ml heksano. Gautas precipitatas dedama į ultragarso vonelę. Po to filtruojamas švirkštiniu filtru, kurio porų dydis — 0,45 μm.

2.2.3.2 Mėginių paruošimas analizei naudojant metanolį

Vienos kapsulės ar tabletės turinys suberiamas į tamsaus stiklo buteliuką. Tirpinamas užpylus 5 ml metanolio. Buteliukas gerai suplakamas ir medžiagos paliekamos maceruoti per naktį (12-24 val. laiko tarpui). Po to tirpalas nupilamas į plastikinį mėgintuvėlį ir centrifuguojamas 5 min prie 1000 RMP apsisukimų. Tirpalas filtruojamas švirkštiniu filtru, kurio porų dydis — 0,45 μm.

2.2.4 Tyrimo metu naudota aparatūra

Kurkuminoidų kokybinis ir kiekybinis įvertinimas ekstraktuose, išgautuose iš maisto papildų su dažinių ciberžolių ekstraktu, buvo vykdomas efektyviosios skysčių chromatografijos būdu.

Tyrimo metu naudotas Waters 2695 (Milford, JAV) skysčių chromatografas. Biologiškai aktyviems junginiams atskirti naudota ACE C18 kolonėlė (ilgis 250 mm, vidinis diametras 4,6 mm, sorbento dalelių dydis 5 μm). Su fotodiodų matricos detektoriumi Waters 996 (Milford, JAV) vykdyta analizių detekcija 200-500 nm bangų ilgio diapozone. Kurkuminoidų ekstrakcija vykdyta ultragarso vonelėje Bandelin Sanorex Digital 10P (Vokietija). Tirpalams sukoncentruoti buvo naudojamas rotacinis garintuvas Heidolph (Vokietija). Tirpalai centrifuguoti su Centurion Scientific C2 Series (Anglija) centrifuga.

2.2.5 Tyrimo sąlygos

Ekstraktams atskirti pasirinktas gradientinis eliuavimas. Mobili fazė buvo sudaryta iš eliuento A (0,05 proc. vandeninė trifluoracto rūgštis) bei eliuento B (100 proc. acetonitrilas). Gradientinio eliuento sudėties kitimas pateikiamas 2 lentelėje.

2 lentelė. Gradientinio eliuento sudėties kitimas

Laikas (min)	Judančioji fazė A (proc. v/v)	Judančioji fazė B (proc. v/v)
00:00	45	55
12:00	45	55
13:00	5	95
18:00	5	95
19:00	45	55

- ACE C18 kolonėles temperatūra — 25 °C;
- Mobilios fazės tekėjimo greitis — 1,0 ml/min;
- Detekcija — kurkumino aptikimui naudotas 420 nm šviesos bangos ilgis;
- Injekcijos tūris — 10 µL;
- Sulaikymo laikas — apie 8,01 min;
- Programinė įranga naudota duomenų rinkimui ir analizei — Empower Chromatography Data Software (Waters Corporation, Milford, JAV)

2.2.6 Kokybinis ir kiekybinis kurkuminoidų įvertinimas *Curcuma longa* L. ekstraktuose ESC metodu

Tirtų kurkuminoidų chromatografinių smailių identifikavimas buvo atliktas lyginant analitės bei etaloninio junginio sulaikymo laikus kolonėlėje ir junginių UV šviesos spinduliuotės absorbcijos spektrines charakteristikas.

Kiekybiniam kurkumino nustatymui pagal žinomų standartų skirtingų koncentracijų tirpalus buvo sudarytos kalibracinės kreivės. Tuomet kurkuminoidų kiekiai apskaičiuoti pagal kalibracinius grafikus. Kurkumino kiekis apskaičiuotas, esant 420 nm šviesos bangos ilgiui. Demetoksikurkuminas apskaičiuotas pagal kurkuminą remiantis programinės įrangos sudaryta formule.

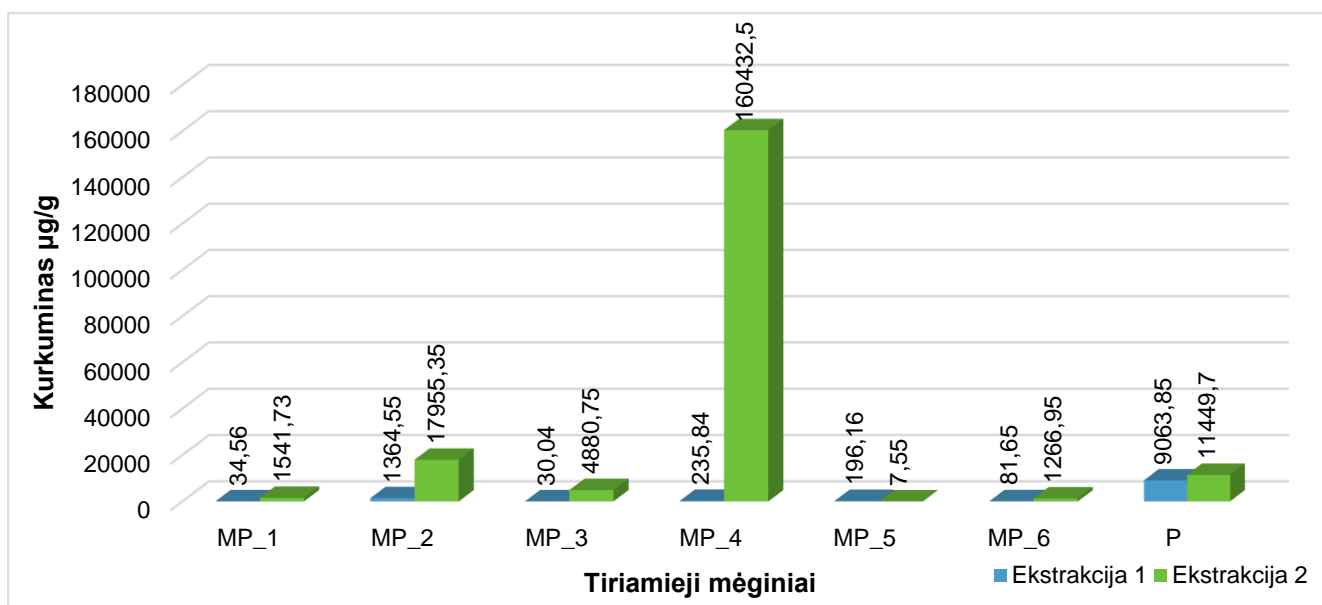
3. REZULTATAI IR JŲ APTARIMAS

3.1 Ekstrakcijos būdo parinkimas

Atsižvelgiant į įvairius literatūros šaltinius buvo išbandyti du skirtingi ekstrakcijos būdai, siekiant išsirinkti efektyviausią būdą tolimesniam maisto papildų tyrimui.

- Pirmasis būdas (Ekstrakcija 1) — mėginiai buvo tirpinami dichlormetane, gautas tirpalas išgarinamas ir sukonzentruojamas. Tuomet užpilama heksano, vėliau skystis filtruojamas.
- Antrasis būdas (Ekstrakcija 2) — mėginiai užpilami metanoliumi ir paliekami maceruoti 12-24 val., po to nufiltruojami.

Tiriamuosiuose mėginiuose buvo nustatinėjamas kurkuminas. Rezultatai pateikiami diagramoje (4 pav.).



4 pav. Kurkumino kiekio lyginimas mėginiuose, paruoštuose dviem skirtingais ekstrakcijos būdais

Iš gautų rezultatų matome, jog antrasis ekstrakcijos būdas (Ekstrakcija 2) buvo veiksmingesnis nei pirmasis (Ekstrakcija 1). Šešiuose iš septynių tiriamųjų mėginių, ruoštų antruoju metodu, identifikuoti didesni kurkumino kiekiai. Ekstrakcija 2 taip pat turi ir atlikimo technikos privalumų – reikalauja mažiau įrangos, reagentų, yra paprastesnė.

Įvertinus dviejų ekstrakcijos metodų rezultatus bei atlikimo technikos patogumą, tolimesnei maisto papildų analizei buvo pasirinktas antrasis, ekstrakcijos su metanoliumi, būdas – Ekstrakcija 2.

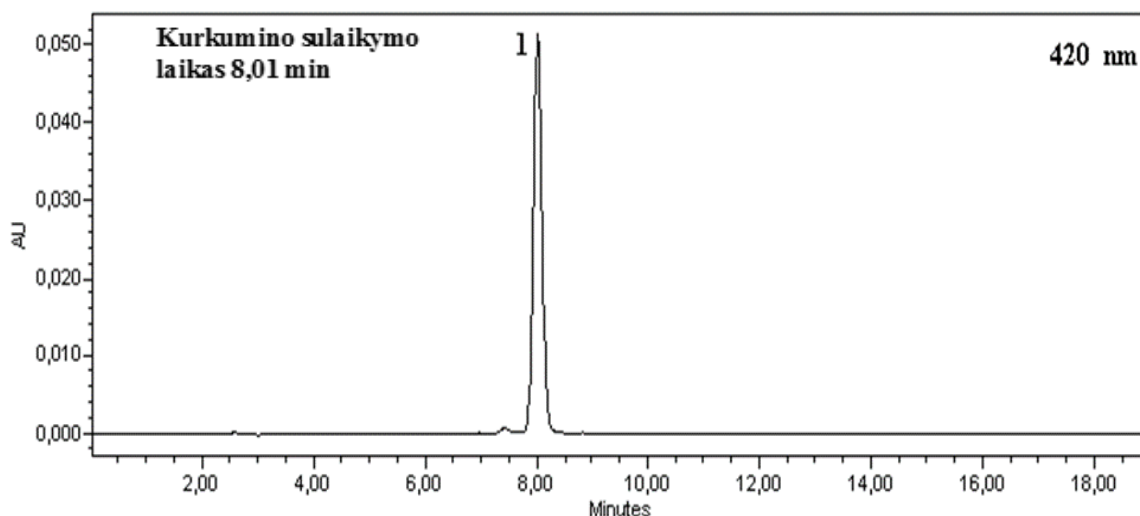
3.2 Metodikos validacija

Siekiant patvirtinti metodo tinkamumą taikyti praktikoje bei atitikimą specifiniams parametrams buvo atlikta metodikos validacija. Remiantis ICH gairėmis buvo įvertinti šie parametrai:

- Specifiškumas (angl. *Specificity*);
- Tiesiškumas (angl. *Linearity*);
- Glaudumas (preciziškumas). Glaudumą sudaro pakartojamumo (angl. *Repeatability*) ir tarpinio preciziškumo (angl. *Intermediate Precision*) parametrai;
- Aptikimo (angl. LoD – *limit of detection*) ir nustatymo (angl. LoQ – *limit of quantification*) ribos.

3.2.1 Metodikos specifiškumas

Specifiškumas yra metodo geba atskirti analites nuo kitų į analizę panašių ar analizei trukdančių junginių, tokių kaip įvairios priemaišos, degradacijos produktai. Tai svarbiausias validacijos parametras. Metodikos specifiškumui įrodyti buvo lygintos etaloninio kurkumino tirpalo ir tiriamųjų tirpalų chromatogramos, vertinti biologiškai aktyvių junginių ultravioletinės šviesos spinduliuotės (UV) šviesos absorbcijos spektrai, sulaikymo laikai. Etaloninio kurkumino tirpalo chromatograma pavaizduota 5 paveiksle. 3 lentelėje pateiktos kurkumino sulaikymo trukmės skirtinguose preparatuose bei dažinių ciberžolių šakniastiebių miltelių prieskonio mėginiuose.



5 pav. Etaloninio kurkumino (1) tirpalo chromatograma

3 lentelė. Kurkumino sulaikymo trukmės skirtinguose mėginiuose

Mėginio pavadinimas	Sulaikymo trukmė (min)
MP_1	7,988
MP_2	7,989
MP_3	8,003
MP_4	8,001
MP_5	7,960
MP_6	7,977
P	7,963
Vidurkis	7,983

Etaloninio kurkumino tirpalo sulaikymo trukmė 8,01 min, maisto papildų bei prieskonio sulaikymo trukmių vidurkis – 7,983 min. Daroma išvada, kad sulaikymo laikai sutampa. Tiriamųjų tirpalų UV šviesos absorbcijos spektrai sutapo su etaloninio kurkumino UV spektru.

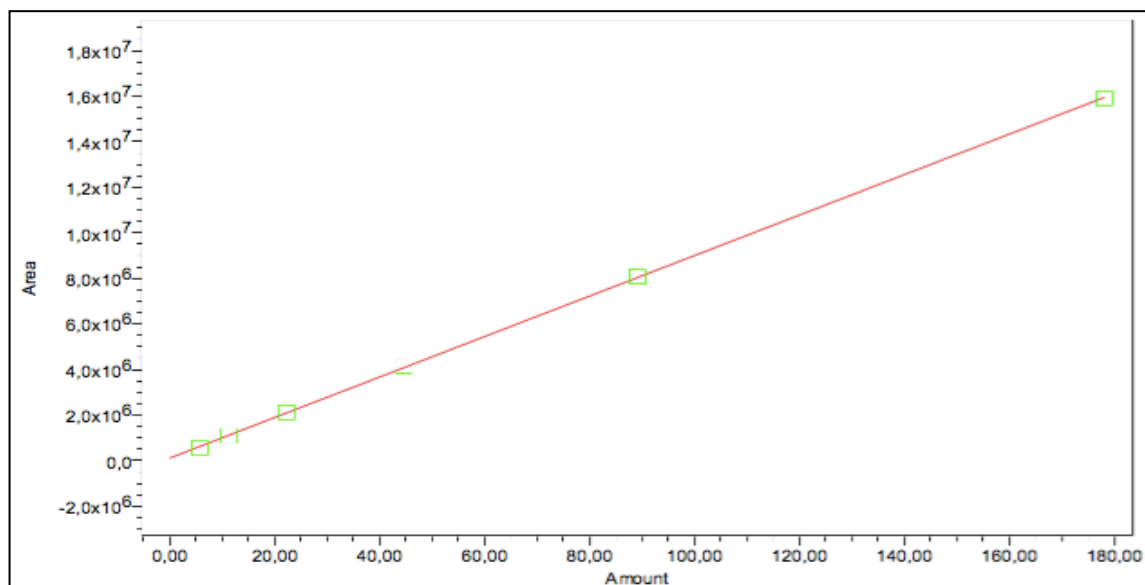
Kadangi sutampa etalono bei tiriamųjų preparatų sulaikymo trukmės ir UV absorbcijos spektrai, galima teigti, jog metodas atitinka specifiškumo kriterijų.

3.2.2 Metodikos tiesiškumas

Tiesiškumas yra metodo geba gauti tyrimo rezultatus, tiesiogiai proporcingus analičių koncentracijai tiriamuosiuose mėginiuose. Tiesiškumas buvo vertinamas matuojant skirtingų koncentracijų kurkumino standarto tirpalus ir sudarant kalibracines kreives. Kurkumino kalibraciniai grafikai sudaryti 5,56 – 178,00 $\mu\text{g/ml}$ ribose. Gauta tiesinė priklausomybė su koreliacijos koeficientu $R = 0,9999$. (Žr. 4 lentelę). 6 paveiksle pateikiama kalibracinė kreivė.

4 lentelė. Etaloninio kurkumino tirpalo tiesiškumo parametrai

Analitė	Sulaikymo laiko vidurkis	Koreliacijos koeficientas	Kalibracinės kreivės lygtis	Tiesiškumo ribos ($\mu\text{g/ml}$)
Kurkuminas	8,01 min	0,9999	$Y = 8,81 \cdot 10^4 x + 1,05 \cdot 10^5$	5,56 - 178



6 pav. Kurkumino kalibracinė kreivė

Tiesiškumo kriterijus atitinka reikalavimus, nes kalibracinės kreivės koreliacijos koeficientas $>0,99$.

3.2.3 Metodikos glaudumas (preciziškumas)

3.2.3.1 Pakartojamumas

Pakartojamumas parodo tyrimo metodikos tikslumą tomis pačiomis veikimo sąlygomis per trumpą laiko tarpą, tyrimą vykdant tą pačią dieną, naudojant tą pačią įrangą ir dirbant tam pačiam analitikui. Pakartojamumas įvertinamas pagal santykinį standartinį nuokrypį (SSN) dar vadinamą variacijos koeficientu (angl. *RSD*). SSN – standartinio nuokrypio ir vidutinio smailės ploto santykis, kuris yra išreikštas procentais. Kiekybinio tyrimo metu SSN turėtų būti ≤ 5 proc. Tyrimo metu pakartojamumas buvo vertinamas, skaičiuojant sulaikymo laikus, vieną po kitos tiriant 5 vienodas tiriamųjų tirpalų injekcijas. (5 lentelė)

5 lentelė. Metodikos rezultatų pakartojamumas

Junginys	Santykinis standartinis nuokrypis (proc.) sulaikymo trukmei
Kurkuminas	0,07

Kurkumino santykinis standartinis nuokrypis sulaikymo trukmei neviršija 5 proc. ribos, todėl rezultatų pakartojamumas atitinka reikalavimus.

3.2.3.2 Tarpinis preciziškumas

Tarpinis preciziškumas – tai variacijos koeficientas, kuris kiekybiniam metodui turėtų būti ≤ 10 proc. Šiam parametru įvertinti 2 dienas buvo tirtos vienodos tirpalų injekcijos, po 5 injekcijas kasdien. Taip pat skaičiuotos SSN reikšmės sulaikymo laikui (6 lentelė).

6 lentelė. Metodikos rezultatų tarpinio preciziškumo įvertinimas

Junginys	Santykinis standartinis nuokrypis (proc.) sulaikymo trukmei
Kurkuminas	0,10

Kurkumino santykinis standartinis nuokrypis sulaikymo trukmei neviršija 10 proc. ribos, todėl tarpinis preciziškumas atitinka reikalavimus.

3.2.4 Kurkumino aptikimo ir nustatymo ribos

Aptikimo riba (angl. LoD – *limit of detection*) yra mažiausias mėginyje esantis analitės kiekis, kuris gali būti aptinkamas, bet nebūtinai nustatomas kiekybiškai. Pagal ICH gaires aptikimo ribos vertinimo metu signalo ir triukšmo santykis turi būti 3 arba 2:1.

Nustatymo riba (angl. LoQ – *limit of quantification*) yra mažiausias analitės kiekis, kuris gali būti kiekybiškai nustatomas analizuojamame mėginyje. Pagal ICH signalo ir triukšmo santykis turi būti 10:1 (7 lentelė).

7 lentelė. Kurkumino aptikimo ir nustatymo ribos

	LoD ($\mu\text{g/ml}$)	LoQ ($\mu\text{g/ml}$)
Kurkuminas	0,023	0,076

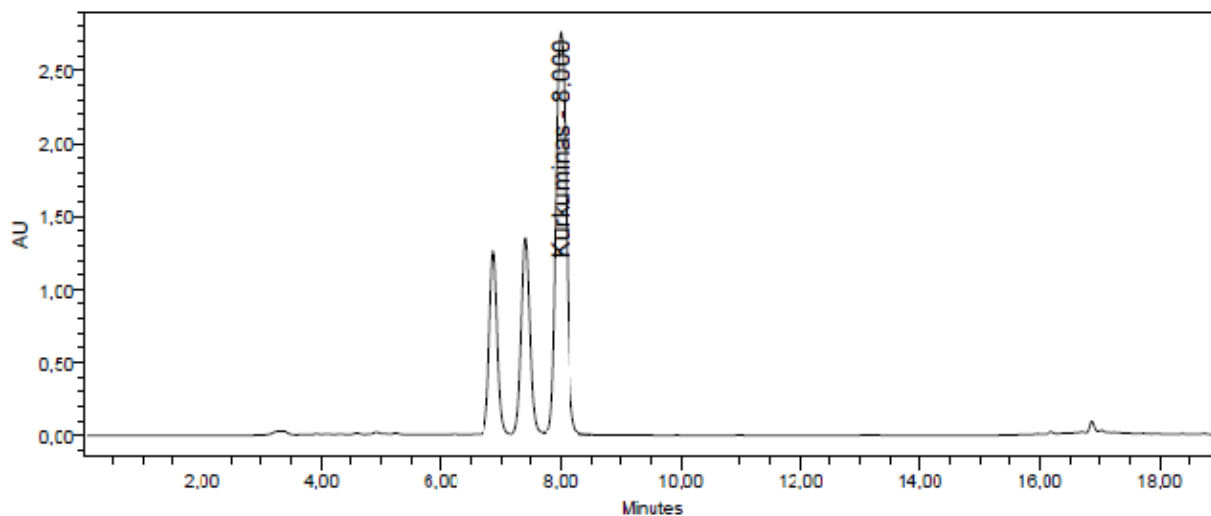
Įvertinus pasirinktus validacijos kriterijus bei remiantis gautais rezultatais, galima teigti, jog parinkta ESC metodika yra tinkama ir gali būti taikoma kurkuminoidų kokybiniam ir kiekybiniam nustatymui. Validuota ESC metodika toliau naudota šiame tyrime kiekybiniam kurkuminoidų nustatymui maisto papilduose su dažinių ciberžolių ekstraktu.

3.3 Maisto papildų su dažinių ciberžolių ekstraktu bei dažinių ciberžolių miltelių prieskonio analizės rezultatai

Tyrimo metu ESC metodu buvo siekiama kokybiškai ir kiekybiškai įvertinti įvairius maisto papildus, sudėtyje turinčius dažinių ciberžolių ekstraktą. Kiekybiškai įvertinus sudėtį ją palyginti su gamintojų deklaruojama ant kai kurių maisto papildų bei su dažinių ciberžolių šakniastiebių miltelių prieskonio, žmonėms lengvai pasiekiamo maisto prekių parduotuvėse, sudėtimi.

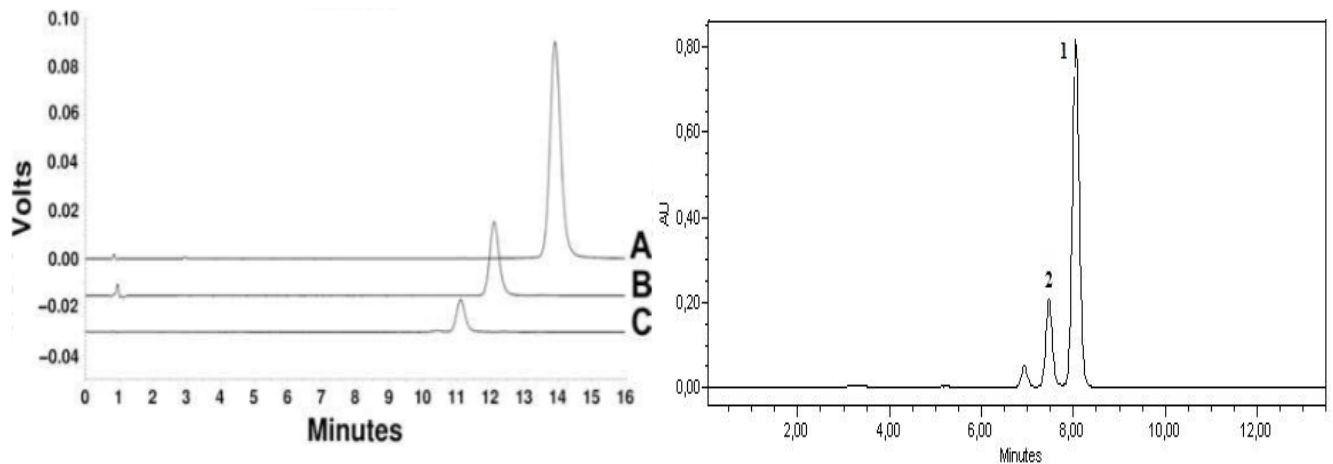
3.3.1 Kokybinis maisto papildų su dažinių ciberžolių ekstraktu bei dažinių ciberžolių miltelių prieskonio įvertinimas

Eksperimentinių tyrimų metu tiriamuosiuose mėginiuose kaip pagrindinis junginys buvo nustatytas kurkuminas (7 pav.) Junginys identifikuotas pagal sulaikymo laikus bei UV šviesos absorbcijos spektrų atitikimus lyginant juos standartiniame tirpale ir tiriamuosiuose tirpaluose (5 pav.). Standartinio kurkumino tirpalo sulaikymo laikas – 8,01 min. Tiriamuosiuose tirpaluose nustatytų kurkumino sulaikymo laikų vidurkis – 7,983 min. (3 lentelė). Sulaikymo laikai varijavo nuo 7,960 iki 8,003 min.



7 pav. Kurkuminas aptiktas maisto papildu MP_2 tiriamajame mėginyje.

Atsižvelgiant į literatūroje pateiktą chromatografinį profilį ir šviesos spektrą be kurkumino taip pat buvo identifikuotas ir demetoksikurkuminas [55] (8 pav.).



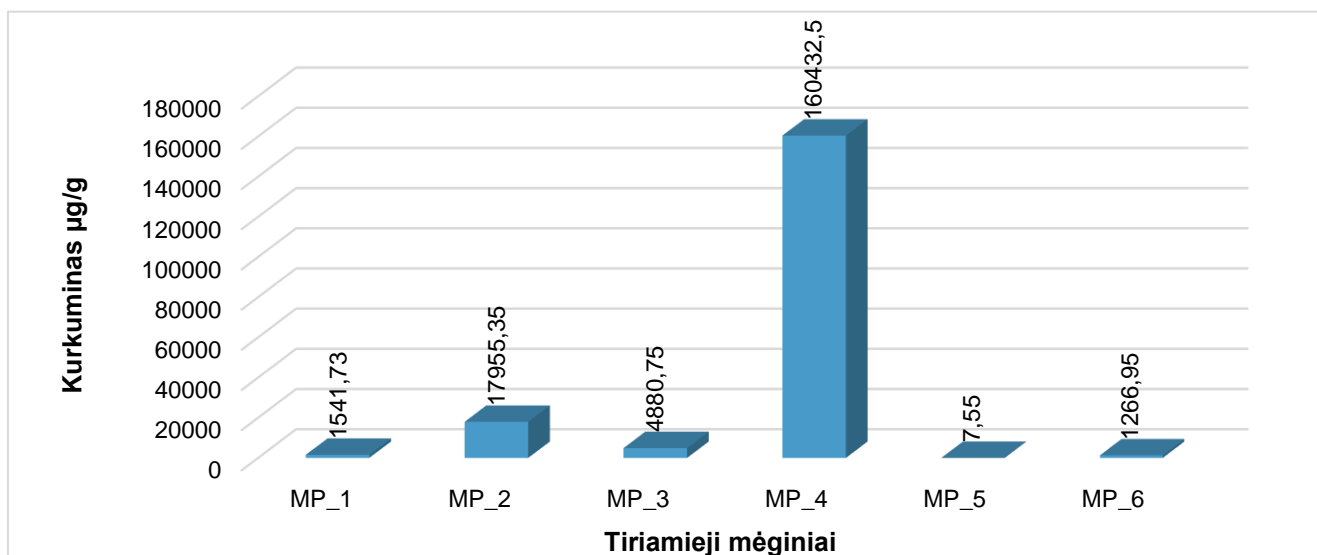
8 pav. Chromatografiniai kurkuminoidų profiliai: A – Kurkuminas, B – Demetoksikurkuminas, C – bisdemetoksikurkuminas [55]. (Kairėje); Maisto papilde MP_6 identifikuoti kurkuminoidai: 1 – Kurkuminas, 2 – Demetoksikurkuminas (Dešinėje)

Visi šeši tirti maisto papildai bei dažinių ciberžolių šakniastiebių miltelių prieskonis atitiko kokybinio tyrimo parametrus. Mėginiuose identifikuoto kurkumino sulaikymo laikai ir UV šviesos absorbcijos spektrai atitiko standartinio tirpalo sulaikymo laiką bei UV šviesos absorbcijos spektrą. Visuose tirtuose mėginiuose kaip pagrindinis biologiškai aktyvus junginys buvo nustatytas kurkuminas bei maži kiekiai demetoksikurkumino.

3.3.2 Kiekybinis maisto papildų su dažinių ciberžolių ekstraktu įvertinimas

Tyrimo metu buvo tiriami šeši skirtingų gamintojų maisto papildai su dažinių ciberžolių ekstraktu. Maisto papildų MP_3 bei MP_4 gamintojai ant pakuotės deklaravo kurkumino kiekį. MP_3 – 465 mg tabletėje yra 20 mg ciberžolių ekstrakto, iš kurio 2 mg yra kurkumino bei MP_4 – 327,5 mg kapsulėje yra 250 mg ciberžolių ekstrakto, iš kurio 175 mg yra kurkumino. Kitų keturių tirtų maisto papildų MP_1, MP_2, MP_5 ir MP_6 gamintojai nedeclaravo jokio biologiškai aktyvių junginių kiekio.

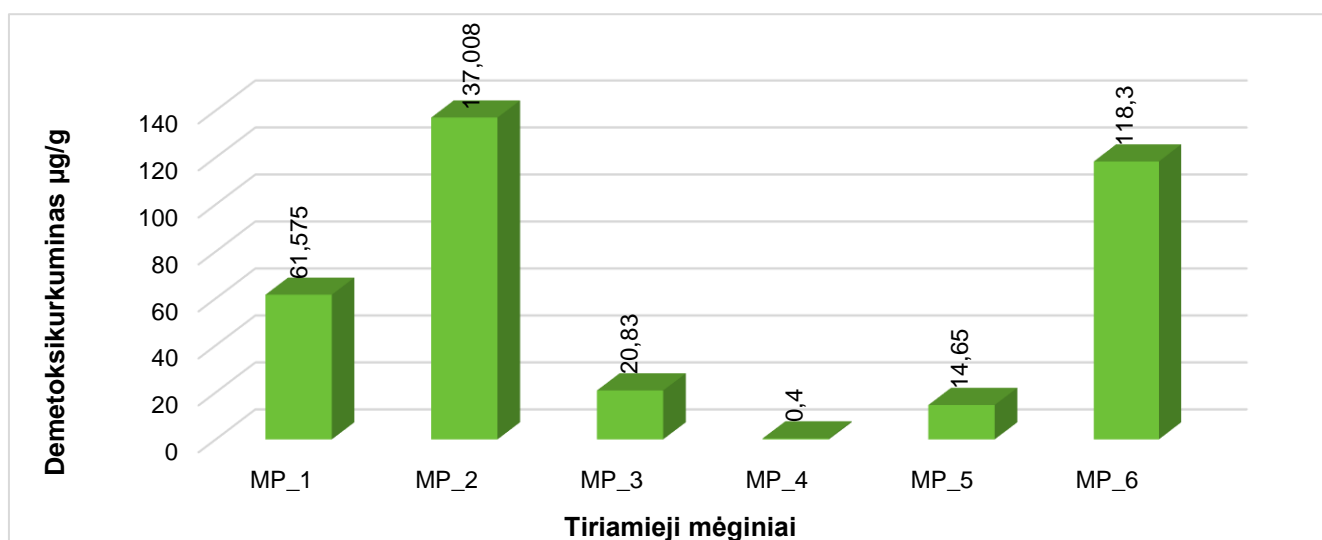
Atlikus chromatografinę analizę, maisto papilduose buvo nustatytas kurkuminas. Tiriamuosiuose tirpaluose kurkuminas apskaičiuotas pagal programinės įrangos sudarytą formulę: $Y = 8,81 \cdot 10^4 x + 1,05 \cdot 10^5$, kur Y – smailės plotas, x – ieškomos medžiagos kiekis. Gauti rezultatai pateikiami diagramoje (9 pav.).



9 pav. Kurkumino kiekis (µg/g) nustatytas tiriamuosiuose maisto papilduose

Didžiausias kurkumino kiekis nustatytas maisto papilde MP_4 – $160\,423,500 \pm 0,02$ µg/g, mažesni kiekiai MP_2 – $17\,955,350 \pm 0,01$ µg/g, MP_3 – $4\,880,750 \pm 0,01$ µg/g, MP_1 – $15\,417,30 \pm 0,02$ µg/g, MP_6 – $1\,266,650 \pm 0,03$. Mažiausias kurkumino kiekis nustatytas MP_5 maisto papilde – $7,550 \pm 0,01$ µg/g.

Kiekybinės analizės metu maisto papildų mėginiuose taip pat buvo identifikuotas demetoksikurkuminas. Jo kiekis apskaičiuotas pagal kurkuminą. Duomenys pateikiami diagramoje (10 pav.).



10 pav. Demetoksikurkumino kiekis (µg/g) nustatytas tiriamuosiuose maisto papilduose

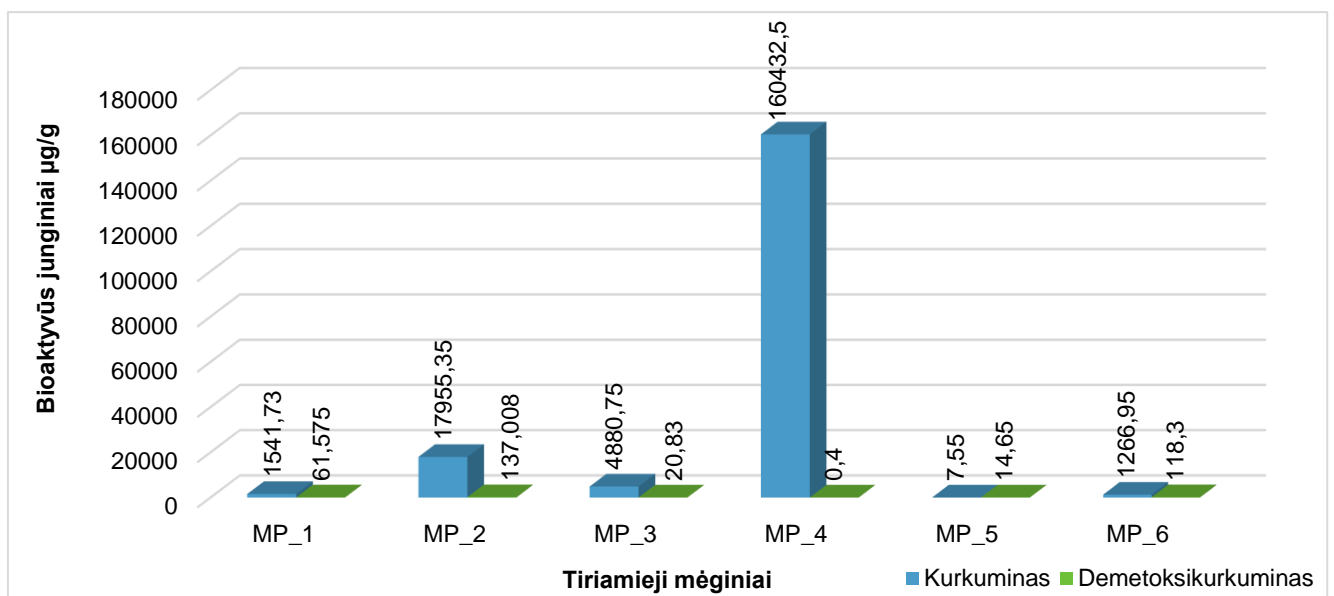
Didžiausias demetoksikurkumino kiekis nustatytas MP_2 – $137,008 \pm 0,01$ µg/g, mažesni kiekiai MP_6 – $118,300 \pm 0,03$ µg/g, MP_1 – $61,575 \pm 0,02$ µg/g, MP_3 – $20,830 \pm 0,01$ µg/g, MP_5 – $14,650 \pm 0,01$ µg/g. Mažiausias kiekis identifikuotas maisto papilde MP_4 – $0,400 \pm 0,02$ µg/g.

2015 m. atliktame tyrime mokslininkai vertino kurkuminoidų kiekį maisto papilduose su dažinių ciberžolių ekstraktu savo nauju optimizuotu bei validuotu ESC metodu. Tiriamųjų mėginių paruošimui taip pat buvo naudojamas metanolis. Kurkumino kiekis, identifikuotas, maisto papilduose svyravo nuo 3,77 iki 882,10 mg/g [56]. Mūsų atlikto tyrimo metu kurkumino kiekis svyravo nuo 0,007 iki 160,43 mg/g. Mokslininkų tyrimo rezultatai mūsų gautus viršija nuo 5 iki 540 kartų, tačiau galima daryti prielaidą, jog skiriantis maisto papildų, naudotų abiejuose tyrimuose, gamintojams galėjo skirtis ir jų kokybė.

3.3.3 Maisto papildų su dažinių ciberžolių ekstraktu kokybės įvertinimas

Paprastai dažinių ciberžolių ekstraktas, naudojamas komerciniais tikslais, yra sudarytas iš 77 proc. kurkumino, 17 proc. demetoksikurkumino bei 3 proc. bisdemetoksikurkumino. Chromatografiniame profilyje visų trijų junginių smailės seka viena paskui kitą (žr. 8 pav.). Vertinant maisto papildų kokybę svarbu atsižvelgti į tai, ar jame identifikuojami visi trys kurkuminoidai ir tikrai yra naudojamas dažinių ciberžolių, o ne vien kurkumino, ekstraktas.

Šiame tyrime maisto papilduose buvo analizuoti du kurkuminoidai, kurių kiekiai, esantys dažinių ciberžolių ekstrakto, didžiausi – kurkuminas ir demetoksikurkuminas. Jų kiekiai, gauti tiriamuosiuose mėginiuose, pateikiami diagramoje (11 pav.). Identifikuoti junginių kiekiai buvo apskaičiuoti procentais, siekiant palyginti kurkumino ir demetoksikurkumino santykį maisto papilduose. Rezultatai pateikiami 8 lentelėje.



12 pav. Kurkumino ir demetoksikurkumino kiekiai (µg/g) tiriamuosiuose maisto papilduose

8 lentelė. Kurkumino ir demetoksikurkumino procentiniai kiekiai maisto papilduose

Maisto papildas	Kurkumino procentinė dalis (proc.)	Demetoksikurkumino procentinė dalis (proc.)
MP_1	90,4	3,6
MP_2	93,2	0,8
MP_3	93,6	0,4
MP_4	93,9	0,1
MP_5	32,1	61,9
MP_6	85,9	8,1

Maisto papilduose MP_2, MP_3 bei MP_4 gauti kurkumino kiekiai viršija 93 proc., o demetoksikurkuminas nesiekia net 1 proc. Geriausi rezultatai gauti maisto papilde MP_6 – 85,9 proc. kurkumino ir 8,1 proc. demetoksikurkumino. Galima daryti prielaidą, jog ne į visus maisto papildus dedamas dažinių ciberžolių ekstraktas, turintis visus tris kurkuminoidus. Tikėtina, jog yra naudojamas vien kurkumino ekstraktas.

2016 m. atvirkštinių fazių ESC metodu atliktame tyrime mokslininkai siekė nustatyti maisto papilduose su dažinių ciberžolių ekstraktu randamų kurkuminoidų grynumą. Kurkumino kiekis svyravo nuo 61,6 iki 112,5 proc., demetoksikurkumino – nuo 0,1 iki 14,6 proc. [57]. Mūsų atlikto tyrimo metu gauti rezultatai: kurkumino identifikuota nuo 32,1 iki 93,9 proc., demetoksikurkumino – nuo 0,1 iki 61,9 proc. Mokslininkų rezultatais kurkumino rasta tiek pat arba iki 2 kartų daugiau, o demetoksikurkumino – tiek pat arba iki 4 kartų mažiau. Abiejuose tyrimuose yra gauta ir panašių, ir skirtingų rezultatų, tam įtaką gali daryti tyrimui pasirinkti skirtingų gamintojų maisto papildai, kuriuose naudota žaliava nesutapo.

Kadangi ant maisto papildų MP_3 ir MP_4 gamintojai deklaravo dažinių ciberžolių ekstrakto bei kurkumino, esančio jame, kiekį, buvo siekiama jį palyginti su tyrimo metu gautais rezultatais. Kad tyrimo metu gautus kiekius palyginti būtų lengviau, apskaičiuota, kiek biologiškai aktyvios medžiagos mg yra vienoje tabletėje ar kapsulėje. Rezultatai pateikiami 9 lentelėje.

9 lentelė. Nustatytų kurkumino kiekių 1 tabletėje ar kapsulėje palyginimas su gamintojų deklaruojamais kiekiais

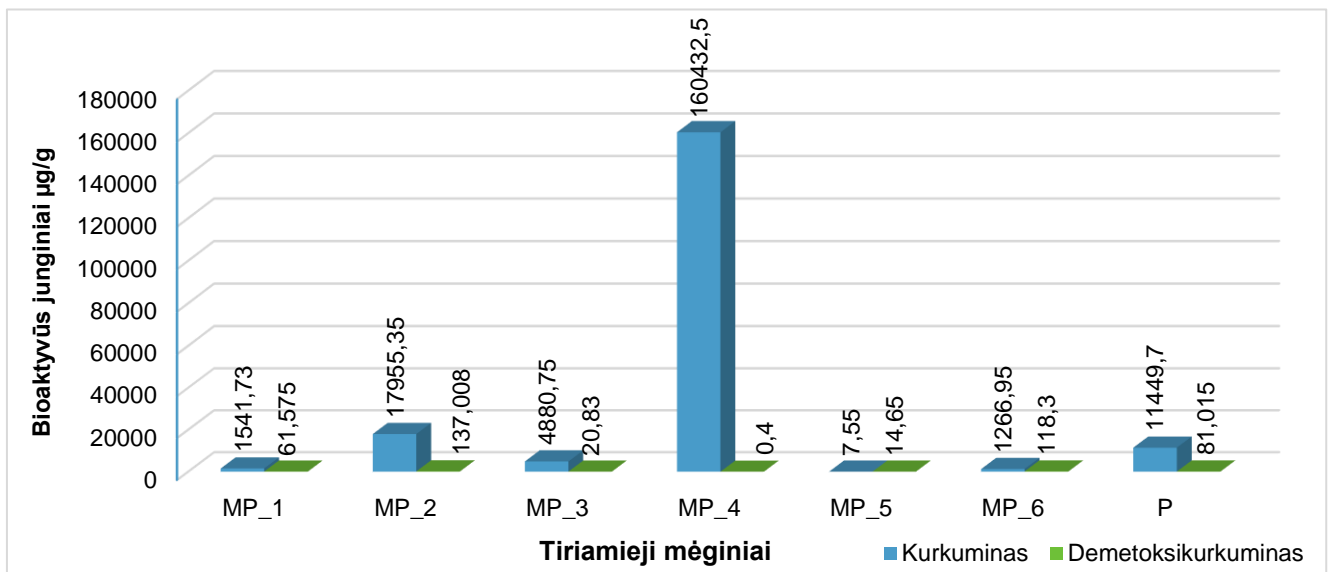
	Kurkumino kiekis (mg) 1 tab./kaps.	
	Tyrimo metu gautas kiekis (mg)	Ant pakuotės deklaruojamas kiekis (mg)
MP_3	2,27 mg	2 mg
MP_4	309,10 mg	175 mg

Maisto papilde MP_3 gautas kurkumino kiekis atitiko gamintojų deklaruojamą kiekį. Maisto papilde MP_4 gautas kurkumino kiekis buvo beveik du kartus didesnis nei deklaruojamas ant pakuotės. Tokie rezultatai leidžia kelti prielaidą, jog MP_4 gamintojai naudojo vien kurkumino ekstraktą.

Palyginus 8 ir 9 lentelėse pateiktus rezultatus, galima teigti, jog ne visi maisto papildai atitinka kokybės reikalavimus bei jų sudėtis atitinka gamintojų ant pakuotės deklaruojamą sudėtį.

3.3.4 Kiekybinis biologiškai aktyvių junginių įvertinimas dažinių ciberžolių šakniastiebių miltelių prieskonyje

Dažinių ciberžolių šakniastiebių milteliai jau nuo seniausių laikų naudojami kaip pagrindinis prieskonis Azijos virtuvėje, ypač indiškuose patiekaluose. Taip pat tie patys šakniastiebių milteliai yra naudojami ir tradicinėje medicinoje bei ajurvedinėje medicinoje. Dabar šis prieskonis yra nesunkiai randamas kone kiekvienoje maisto prekių parduotuvėje, todėl siekiant palyginti kurkuminoidų kiekį dažinių ciberžolių maisto papilduose (MP) ir šakniastiebių miltelių prieskonyje (P) buvo atlikta jo kiekybinė analizė. Rezultatai pateikiami 13 paveiksle.



13 pav. Kurkumino ir demetoksikurkumino kiekiai (µg/g) tiriamuosiuose maisto papilduose ir prieskonyje

Dažinių ciberžolių šakniastiebių miltelių prieskonyje P buvo nustatyta $11\,449,700 \pm 0,02$ µg/g kurkumino ir $81,015 \pm 0,01$ µg/g demetoksikurkumino. Apžvelgus rezultatus matome, jog prieskonyje kurkumino yra daugiau nei MP_1, MP_3, MP_5 bei MP_6 maisto papilduose. Tik dviejuose (MP_2,

MP_4) iš šešių maisto papildų pagrindinio bioaktyvaus junginio kurkumino kiekis yra didesnis nei prieskonyje (P).

Anot mokslininkų, 500 mg koncentruoto 95 proc. dažinių ciberžolių ekstrakto gali turėti net iki 400 mg kurkuminoidų, kai 500 mg malto ciberžolės prieskonio turės tik 15 mg tų pačių kurkuminoidų [58]. Tai lemia, jog kurkuminoidai sudaro tik iki 4-5 proc. dažinių ciberžolių šakniastiebių svorio [58]. Terapinė kurkumino dozė yra 400-600 mg triskart dienoje, o tai lygu 60 g šviežių dažnių ciberžolių šakniastiebių arba 15 g šakniastiebių miltelių [58]. Tyrimų metu nustatyta, jog indai su maistu sunaudoja 80-200 mg kurkumino per dieną [58].

Įvertinus 13 paveiksle pateiktus rezultatus bei mokslinio straipsnio duomenis, galima teigti jog dažinių ciberžolių šakniastiebių prieskonis gali būti veiksminga priemonė kasdieniam profilaktiniam naudojimui, tačiau siekiant greitesnių ir stipresnių rezultatų su mažesniu kiekiu veikliosios medžiagos gali tekti rinktis maisto papildus su koncentruotu dažinių ciberžolių ekstraktu.

4. IŠVADOS

1. Pasirinkta ESC metodika yra tinkama kurkuminoidų, esančių dažinėse ciberžolėse, kokybiniam ir kiekybiniam įvertinimui. Metodika validuota atsižvelgiant į specialius kriterijus, tokius kaip specifiškumas, tiesiškumas, glaudumas. Apskaičiuota kurkumino aptikimo riba – 0,023 µg /ml bei nustatymo riba – 0,076 µg /ml.
2. ESC metodu atliktas maisto papildų su dažinių ciberžolių ekstraktu bei dažinių ciberžolių šakniastiebių miltelių prieskonio kokybinės bei kiekybinės sudėties tyrimas. Tiriamuosiuose mėginiuose identifikuoti ir kiekybiškai įvertinti biologiškai aktyvūs junginiai – kurkuminas bei demetoksikurkuminas.
3. Palyginus rezultatus gauta, jog tik dviejuose maisto papilduose (MP_2, MP_4) kurkumino kiekis yra didesnis negu dažinės ciberžolės prieskonyje (P). Likusiuose keturiuose maisto papilduose (MP_1, MP_3, MP_5, MP_6) identifikuotas kurkuminoidų kiekis yra mažesnis.
4. Iš dviejų maisto papildų su gamintojų deklaruotu kurkumino kiekiu tik vieno kiekis sutapo su tyrimo metu gautais rezultatais. Maisto papilde MP_3 deklaruojami 2 mg kurkumino vienoje tabletėje, gauta – 2,3 mg. Maisto papilde MP_4 – 175 mg kurkumino vienoje kapsulėje, gauta – 309 mg. Kadangi MP_4 nustatytas kiekis yra net beveik du kartus didesnis už deklaruojamą, galima daryti prielaidą, jog gamintojai naudojo ne dažinių ciberžolių, bet vien kurkumino ekstraktą.

5. PRAKTINĖS REKOMENDACIJOS

Remiantis gautais tyrimo rezultatais, galima teigti, jog dažinių ciberžolių šakniastiebių miltelių prieskonis gali atstoti kai kurių ne itin kokybiškų maisto papildų vartojimą. Jis ypač tinka profilaktiniam kasdieniam vartojimui. Visgi siekiant stipresnio ir greitesnio efekto reiktų atsižvelgti į tai, jog maisto papilduose yra koncentruotas kurkuminoidų ekstraktas, todėl su mažesniu kiekiu galima pasiekti didesnį efektą nei vartojant prieskonį.

6. LITERATŪROS APŽVALGA

1. Jurenka S J. Anti-inflammatory properties of Curcumin, a major constituent of *Curcuma longa*: a review of preclinical and clinical research. *Alternative Medicine Review*. 2009;14(2):141-53.
2. Li S, Yuan W, Deng G, Wang P, Yang P, Aggarwal B. Chemical composition and product quality control of turmeric (*Curcuma longa* L.). *Pharmaceutical Crops* 2011;2:28–54.
3. Himesh S, Sharan PS, Mishra K, Govind N, Singhai AK. Qualitative and quantitative profile of curcumin from ethanolic extract of *Curcuma longa*. *Int Res J Pharm* 2011;2(4):180-184.
4. Strimpakos AS, Sharma, RA. Curcumin: preventive and therapeutic properties in laboratory studies and clinical trials. *Antioxidants & redox signaling* 2008;10(3):511-546.
5. Verma S, Singh SP. Current and future status of herbal medicines. *Veterinary world* 2008;1(11):347-350.
6. Basnet P, Skalko-Basnet N. Curcumin: an anti-inflammatory molecule from a curry spice on the path to cancer treatment. *Molecules* 2011;16(6):4567-4598.
7. Osorio-Tobón JF, Carvalho PI, Rostagno MA, Petenate AJ, Meireles MAA. Extraction of curcuminoids from deflavored turmeric (*Curcuma longa* L.) using pressurized liquids: process integration and economic evaluation. *The Journal of supercritical fluids* 20014;95:167-174.
8. Villegas I, Sánchez-Fidalgo S, Alarcón de la Lastra C. New mechanisms and therapeutic potential of curcumin for colorectal cancer. *Molecular nutrition & food research* 2008;52(9):1040-1061.
9. Bishnoi M, Chopra K, Kulkarni SK. Protective effect of Curcumin, the active principle of turmeric (*Curcuma longa*) in haloperidol-induced orofacial dyskinesia and associated behavioural, biochemical and neurochemical changes in rat brain. *Pharmacology Biochemistry and Behavior* 2008;88(4):511-522.
10. Anand P, Kunnumakkara AB, Newman RA, Aggarwal BB. Bioavailability of curcumin: problems and promises. *Molecular pharmaceutics* 2007;4(6):807-818.
11. Bailey R, Gahche J, Miller P, Thomas P, Dwyer J. Why US Adults Use Dietary Supplements. *JAMA Internal Medicine*. 2013;173(5):355.
12. Joshi P, Jain S, Sharma V. Turmeric (*Curcuma longa*) a natural source of edible yellow colour. *International journal of food science & technology* 2009;44(12):2402-2406.
13. Scartezzini P, Speroni E. Review on some plants of Indian traditional medicine with antioxidant activity. *Journal of ethnopharmacology* 2000;71(1-2):23-43.
14. Olojede AO, Nwokocha CC, Akinpelu AO, Dalyop T. Effect of variety, rhizome and seed bed types on yield of turmeric (*Curcuma longa* L) under a humid tropical agro-ecology. *Adv. Bio. Res* 2009;3:40-42.

15. Prasad S, Aggarwal BB. Turmeric, the golden spice. In: Benzie IFF, Wachtel-Galor S, editors. *Herbal Medicine: Biomolecular and Clinical Aspects*, 2nd ed. Hoboken: Taylor and Francis; 2011. Chapter 13.
16. Hamidpour R, Hamidpour S, Hamidpour M, Sohraby M, Hamidpour R. Turmeric (*Curcuma longa*): from a variety of traditional medicinal application to its novel roles as active antioxidant, anti-inflammatory, anti-cancer, and anti-diabetes. *Int J Pharmacol Phytochem Ethnomed* 2015;1:37-45.
17. Prasad S, Gupta SC, Tyagi AK, Aggarwal BB. Curcumin, a component of golden spice: from bedside to bench and back. *Biotechnology advances* 2014;32(6):1053-1064.
18. Sasikumar B. Turmeric. In: Peter KV, editor. *Handbook of Herbs and Spices*, 2nd ed. vol. 1. Philadelphia: Woodhead publishing; 2012. p. 526-546.
19. Gupta SC, Sung B, Kim JH, Prasad S, Li S, Aggarwal BB. Multitargeting by turmeric, the golden spice: from kitchen to clinic. *Molecular nutrition & food research* 2013;57(9):1510-1528.
20. Balakrishnan KV. Postharvest technology and processing of turmeric. In: Ravindran PN, Nirmal Babu K, Sivaraman K, editors. *Turmeric: The Genus Curcuma*. Boca Raton: CRC press; 2007. p. 193-257.
21. Cikrikci S, Mozioglu E, Yilmaz H. Biological activity of curcuminoids isolated from *Curcuma longa*. *Records of Natural Products* 2008;2(1):19.
22. Goel A, Kunnumakkara AB, Aggarwal BB. Curcumin as "Curecumin": from kitchen to clinic. *Biochemical pharmacology* 2008;75(4):787-809.
23. Shen L, Ji HF. Theoretical study on physicochemical properties of curcumin. *Spectrochim Acta A Mol Biomol Spectrosc* 2007;67:619-23.
24. Schiborr C, Kocher A, Behnam D, Jandasek J, Toelstede S, Frank J. The oral bioavailability of curcumin from micronized powder and liquid micelles is significantly increased in healthy humans and differs between sexes. *Molecular nutrition & food research* 2014;58(3):516-527.
25. Hoehle SI, Pfeiffer E, Metzler M. Glucuronidation of curcuminoids by human microsomal and recombinant UDP-glucuronosyltransferases. *Molecular nutrition & food research* 2007;51(8):932-938.
26. Vareed SK, Kakarala M, Ruffin MT, Crowell JA et al. Pharmacokinetics of curcumin conjugate metabolites in healthy human subjects. *Cancer Epidemiol. Biomarkers Prev* 2008;17(6):1411-1417.
27. Sun D, Zhuang X, Xiang X, Liu Y et al. A novel nanoparticle drug delivery system: the anti-inflammatory activity of curcumin is enhanced when encapsulated in exosomes. *Molecular Therapy* 2010;18(9):1606-1614.
28. Jäger R, Lowery RP, Calvanese AV, Joy JM, Purpura M, Wilson JM. Comparative absorption of curcumin formulations. *Nutrition journal* 2014;13(1):11.

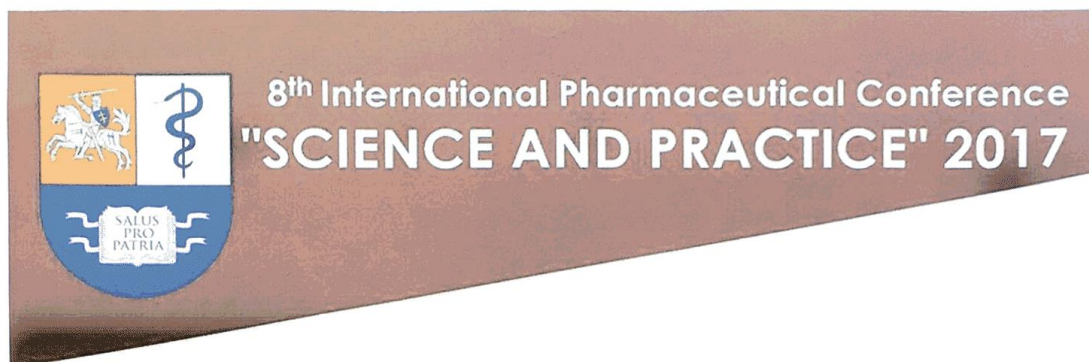
29. Prasad S, Tyagi AK, Aggarwal BB. Recent developments in delivery, bioavailability, absorption and metabolism of curcumin: the golden pigment from golden spice. *Cancer research and treatment: official journal of Korean Cancer Association* 2014;46(1):2.
30. Suresh D, Srinivasan K. Tissue distribution & elimination of capsaicin, piperine & curcumin following oral intake in rats. *Indian J Med Res.* 2010;131:682–691.
31. Biesalski HK. Polyphenols and inflammation: basic interactions. *Current Opinion in Clinical Nutrition & Metabolic Care* 2007;10(6):724-728.
32. Khan N, Afaq F, Mukhtar H. Cancer chemoprevention through dietary antioxidants: progress and promise. *Antioxidants & redox signaling*, 2008;10(3):475-510.
33. Lin CL, Lin JK. Curcumin: a potential cancer chemopreventive agent through suppressing NF- κ B signaling. *J Cancer Mol* 2008;4(1):11-16.
34. Chandrasekaran CV, Kannan Sundarajan JRE, Gururaja GM, Mundkinajeddu D, Agarwal A. Immune-stimulatory and anti-inflammatory activities of *Curcuma longa* extract and its polysaccharide fraction. *Pharmacognosy Research* 2013;5(2):71.
35. Anna KT, Suhana ME, Das S, Faizah O, Hamzaini AH. Anti-inflammatory effect of *Curcuma longa* (turmeric) on collagen-induced arthritis: an anatomico-radiological study. *Clin Ter* 2011;162(3):201-207.
36. Madhu K, Chanda K, Saji MJ. Safety and efficacy of *Curcuma longa* extract in the treatment of painful knee osteoarthritis: a randomized placebo-controlled trial. *Inflammopharmacology* 2013;21(2):129-136.
37. Anand P, Sundaram C, Jhurani S, Kunnumakkara AB, Aggarwal BB. Curcumin and cancer: an “old-age” disease with an “age-old” solution. *Cancer letters* 2008;267(1):133-164.
38. Baum L, Lam CWK, Cheung SKK, Kwok T, Lui V, Tsoh, J et al. Six-month randomized, placebo-controlled, double-blind, pilot clinical trial of curcumin in patients with Alzheimer disease. *Journal of clinical psychopharmacology* 2008;28(1):110-113.
39. Aggarwal BB, Harikumar KB. Potential therapeutic effects of curcumin, the anti-inflammatory agent, against neurodegenerative, cardiovascular, pulmonary, metabolic, autoimmune and neoplastic diseases. *The international journal of biochemistry & cell biology* 2009;41(1):40-59.
40. Lim HS, Park SH, Ghafour K, Hwang SY, Park J. Quality and antioxidant properties of bread containing turmeric (*Curcuma longa* L.) cultivated in South Korea. *Food Chemistry* 2011;124(4):1577-1582.
41. Miquel J, Bernd A, Sempere JM, Diaz-Alperi J, Ramirez A. The curcuma antioxidants: pharmacological effects and prospects for future clinical use. A review. *Archives of gerontology and geriatrics* 2002;34(1):37-46.

42. Quiles JL, Mesa MD, Ramírez-Tortosa CL, Aguilera CM, Battino M et al. Curcuma longa extract supplementation reduces oxidative stress and attenuates aortic fatty streak development in rabbits. *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology*, 2002;22(7):1225-1231.
43. Trujillo J, Chirino YI, Molina Jijón E, Andérica-Romero AC, Tapia E, Pedraza-Chaverri J. Renoprotective effect of the antioxidant curcumin: Recent findings. *Redox biology*, 2013;1(1):448-456.
44. Chiu J, Khan ZA, Farhangkhoe H, Chakrabarti S. Curcumin prevents diabetes-associated abnormalities in the kidneys by inhibiting p300 and nuclear factor- κ B. *Nutrition* 2009;25(9):964-972.
45. Bar-Sela G, Epelbaum R, Schaffer M. Curcumin as an anti-cancer agent: review of the gap between basic and clinical applications. *Current medicinal chemistry* 2010;17(3):190-197.
46. Mohammad P, Nosratollah Z, Mohammad R, Abbas A, Javad R. The inhibitory effect of Curcuma longa extract on telomerase activity in A549 lung cancer cell line. *African Journal of Biotechnology* 2010;9(6):912-919.
47. Bimonte S, Barbieri A, Palma G, Luciano A, Rea D, Arra C. Curcumin inhibits tumor growth and angiogenesis in an orthotopic mouse model of human pancreatic cancer. *BioMed research international* 2013;2013:810423.
48. Kunnumakkara AB, Guha S, Krishnan S, Diagaradjane P, Gelovani J, Aggarwal BB. Curcumin potentiates antitumor activity of gemcitabine in an orthotopic model of pancreatic cancer through suppression of proliferation, angiogenesis, and inhibition of nuclear factor- κ B-regulated gene products. *Cancer research* 2007;67(8):3853-3861.
49. Johnson JJ, Mukhtar H. Curcumin for chemoprevention of colon cancer. *Cancer letters* 2007;255(2):170-181.
50. Kulkarni SJ, Maske KN, Budre MP, Mahajan RP. Extraction and purification of curcuminoids from Turmeric (*Curcuma longa* L.). *International Journal of Pharmacology and Pharmaceutical Technology* 2012;1(2):81-84.
51. Long Y, Zhang W, Wang F, Chen Z. Simultaneous determination of three curcuminoids in *Curcuma longa* L. by high performance liquid chromatography coupled with electrochemical detection. *Journal of Pharmaceutical Analysis* 2014;4(5):325-330.
52. Pothitirat W, Gritsanapan W. Quantitative analysis of curcumin, demethoxycurcumin and bisdemethoxycurcumin in the crude curcuminoid extract from *Curcuma longa* in thailand by tlc densitometry. *MUJ Pharm Science* 2005;32(1-2):23-30.
53. Thakker VY, Shah VN, Shah UD, Suthar MP. Simultaneous estimation of gallic acid, curcumin and quercetin by HPTLC method. *J Adv Pharm Educ Res* 2011;1:70-80.

54. Phattanawasin P, Sotanaphun U, Sriphong L. Validated TLC-image analysis method for simultaneous quantification of curcuminoids in *Curcuma longa*. *Chromatographia* 2009;69(3-4):397-400.
55. Wichitnithad W, Jongaroonngamsang N, Pummangura S, Rojsitthisak P. A simple isocratic HPLC method for the simultaneous determination of curcuminoids in commercial turmeric extracts. *Phytochemical Analysis* 2009;20(4):314-319.
56. Mudge E, Chan M, Venkataraman S, Brown PN. Curcuminoids in turmeric roots and supplements: method optimization and validation. *Food Analytical Methods* 2016;9(5):1428-1435.
57. Shervington L, Ingham O, Shervington A. Purity Determination of Three Curcuminoids Found in Ten Commercially Available Turmeric Dietary Supplements Using a Reverse Phase HPLC Method. *Nat Prod Chem Res* 2016;4(244):2.
58. Bengmark S, Mesa MD, Gil A. Plant-derived health-the effects of turmeric and curcuminoids. *Nutricion hospitalaria* 2009;24(3).

7.PRIEDAI

1 priedas. VIII tarptautinės mokslinės konferencijos "Mokslas ir praktika" dalyvavimo sertifikatas



Certificate of Attendance

Organising Committee hereby certifies that

Arelina Marčiukaitytė

Has attended the International Conference, held on
December 15th, 2017, Kaunas, Lithuania
and presented a poster.

On behalf of the Organising Committee


Prof. Ramune Morkuniene

Organised by:

