

**DARBAS ATLIKTAS FARMAKOGNOZIJOS KATEDROJE
PATVIRTINIMAS APIE ATLIKTO DARBO SAVARANKIŠKUMĄ**

Patvirtinu, kad įteikiamas magistro baigiamasis darbas: Erškėčių (*Rosa L.*) genties augalų vaisių fitocheminės sudėties tyrimas

1. Yra atliktas mano paties.
2. Nebuvo naudotas kitame universitete Lietuvoje ir užsienyje.
3. Nenaudojau šaltinių, kurie nėra nurodyti darbe, ir pateikiu visą naudotos literatūros sąrašą.

Elektroniniu laišku patvirtinu, o darbas bus pasirašytas pasibaigus karantino ir ekstremaliosios situacijos dėl COVID-19 pandemijos Lietuvos Respublikoje laikotarpiui.

2020-05-21

Rugilė Juodytė

(data)

(autoriaus vardas, pavardė)

(parašas)

**PATVIRTINIMAS APIE ATSAKOMYBĘ UŽ LIETUVIŲ KALBOS
TAISYKLINGUMĄ ATLIKTAME DARBE**

Patvirtinu lietuvių kalbos taisyklumą atliktame darbe.

Elektroniniu laišku patvirtinu, o darbas bus pasirašytas pasibaigus karantino ir ekstremaliosios situacijos dėl COVID-19 pandemijos Lietuvos Respublikoje laikotarpiui.

2020-05-21

Rugilė Juodytė

(data)

(autoriaus vardas, pavardė)

(parašas)

MAGISTRO BAIGIAMOJO DARBO VADOVO IŠVADA DĖL DARBO GYNIMO

Elektroniniu laišku patvirtinu, o darbas bus pasirašytas pasibaigus karantino ir ekstremaliosios situacijos dėl COVID-19 pandemijos Lietuvos Respublikoje laikotarpiui.

2020-05-21

Prof. habil. dr. Valdimaras Janulis

(data)

(darbo vadovo vardas, pavardė)

(parašas)

**MAGISTRO BAIGIAMASIS DARBAS APROBUOTAS KATEDROJE (KLINIKOJE,
INSTITUTE)**

Elektroniniu laišku patvirtinu, o darbas bus pasirašytas pasibaigus karantino ir ekstremaliosios situacijos dėl COVID-19 pandemijos Lietuvos Respublikoje laikotarpiui.

2020-05-21

Prof. Sonata Trumbeckaitė

(aprobacijos data)

(katedros vedėjos vardas, pavardė)

(parašas)

Baigiamojo darbo recenzentas

Elektroniniu laišku patvirtinu, o darbas bus pasirašytas pasibaigus karantino ir ekstremaliosios situacijos dėl COVID-19 pandemijos Lietuvos Respublikoje laikotarpiui.

(vardas, pavardė)

(parašas)

Baigiamųjų darbų gynimo komisijos įvertinimas:

(data)

(gynimo komisijos sekretoriaus (-ės) vardas, pavardė)

(parašas)

LIETUVOS SVEIKATOS MOKSLŲ UNIVERSITETAS
MEDICINOS AKADEMIJA
FARMACIJOS FAKULTETAS
FARMAKOLOGIJOS KATEDRA

RUGILĖ JUODYTĖ

**ERŠKĖČIŲ (*ROSA L.*) GENTIES AUGALŲ VAISIŲ FITOCHEMINĖS
SUDĖTIES TYRIMAS**
Magistro baigiamasis darbas

Darbo vadovas

Prof. habil. dr. Valdimaras Janulis

KAUNAS, 2020

LIETUVOS SVEIKATOS MOKSLŲ UNIVERSITETAS
MEDICINOS AKADEMIJA
FARMACIJOS FAKULTETAS
FARMAKOLOGIJOS KATEDRA

TVIRTINU:

Farmacijos fakulteto dekanė prof. dr. Ramunė Morkūnienė

Data

**ERŠKĖČIŲ (*ROSA L.*) GENTIES AUGALŲ VAISIŲ FITOCHEMINĖS
SUDĖTIES TYRIMAS**

Magistro baigiamasis darbas

Darbo vadovas

Prof. habil. dr. Valdimaras Janulis

Data

Recenzentas

Data

Darbą atliko

Magistrantė

Rugilė Juodytė

Data

KAUNAS, 2020

TURINYS

SANTRAUKA.....	5
SUMMARY	6
SANTRUMPOS	7
ĮVADAS.....	8
DARBO TIKSLAS IR UŽDAVINIAI.....	10
1. LITERATŪROS APŽVALGA.....	11
1.1. Erškėčių (<i>Rosa L.</i>) genties augalų apibūdinimas, paplitimas, morfologiniai požymiai	11
1.2. Erškėčių rūšių apibūdinimas ir morfologiniai požymiai	12
1.3. Erškėčių vaisių cheminės sudėties tyrimai	13
1.4. Erškėčių vaisiuose kaupiamų biologiškai aktyvių junginių poveikio tyrimai	15
1.5. Literatūros apžvalgos apibendrinimas	18
2. METODIKA.....	19
2.1. Tyrimo objektas	19
2.2. Naudoti reagentai.....	19
2.3. Naudota aparatūra.....	20
2.4. Erškėčių vaisių ėminių ekstraktų paruošimas	20
2.5. Tyrimo metodai.....	21
2.5.1. Bendro fenolinių junginių kiekio nustatymas Folin – Ciocalteu metodu	21
2.5.2. Bendro hidroksicinamono rūgšties darinių kiekio nustatymas.....	22
2.5.3. Bendro flavonoidų kiekio nustatymas	22
2.5.4. Antiradikalinio aktyvumo nustatymas DPPH metodu	23
2.5.5. Redukcinio aktyvumo tyrimas naudojant FRAP metodą.....	24
2.5.6. Ultra–efektyviosios skysčių chromatografijos metodika	25
2.6. Statistinis duomenų įvertinimas.....	26
3. REZULTATAI IR JŲ APTARIMAS	27
3.1. Erškėčių vaisių ėminių fenolinių junginių ekstrakcijos sąlygų nustatymas.....	27
3.2. Bendro fenolinių junginių kiekio nustatymas erškėčių vaisių ėminiuose	29
3.3. Bendro hidroksicinamono rūgšties darinių kiekio nustatymas erškėčių vaisių ėminiuose.....	31

3.4. Bendro flavonoidų kiekio nustatymas erškėčių vaisių ėminiuose	33
3.5. Erškėčių vaisių ėminių ištraukų antiradikalinio aktyvumo <i>in vitro</i> nustatymas.....	35
3.6. Erškėčių vaisių ėminių ištraukų redukcinio aktyvumo <i>in vitro</i> nustatymas	36
3.7. Fenolinių junginių kokybinės ir kiekybinės sudėties nustatymas UESC metodu erškėčių vaisių ėminiuose.....	38
3.8. Rezultatų apibendrinimas	43
4. IŠVADOS	45
5. PRAKTINĖS REKOMENDACIJOS.....	47
6. LITERATŪRA.....	48

SANTRAUKA

R. Juodytės magistro baigiamasis darbas/ mokslinis vadovas prof. habil. dr. Valdimaras Janulis; Lietuvos sveikatos mokslų universiteto, Medicinos akademijos, Farmacijos fakulteto, Farmakognozijos katedra, Kaunas.

Pavadinimas: Erškėčių (*Rosa L.*) genties augalų vaisių fitocheminės sudėties tyrimas.

Tyrimo tikslas: ištirti Lietuvos klimatinėse sąlygose auginamų erškėčių veislių vaisių ėminių fenolinių junginių kokybinės ir kiekybinės sudėties įvairavimą, bei įvertinti jų ištraukų antioksidacinį aktyvumą *in vitro*.

Uždaviniai: nustatyti Lietuvoje auginamų veislių erškėčių vaisių ėminių fenolinių junginių ekstrakcijos sąlygas; ištirti fenolinių junginių kiekio įvairavimą skirtingų veislių erškėčių vaisių ėminiuose, taikant UV–regimosios šviesos spektrofotometrijos metodą; įvertinti Lietuvoje auginamų skirtingų veislių erškėčių vaisių ėminių ištraukų antioksidacinį aktyvumą *in vitro*, taikant UV–regimosios šviesos spektrofotometrijos metodą; nustatyti fenolinių junginių kokybinę ir kiekybinę sudėtį skirtingų veislių erškėčių vaisių ėminiuose ultra–efektyviosios skysčių chromatografijos metodu;

Tyrimo objektas ir metodai: Lietuvos klimato sąlygose auginamų erškėčių veislių vaisių ėminiai. Bendras fenolinių junginių, hidroksicinamono rūgšties darinių, flavonoidų kiekis ir antioksidacinis aktyvumas *in vitro* nustatytas naudojant UV–regimosios šviesos spektrofotometrijos metodą. Efektyviosios skysčių chromatografijos metodu nustatyta kiekybinė ir kokybinė fenolinių junginių sudėtis.

Tyrimo rezultatai ir išvados: didžiausias bendras fenolinių junginių kiekis nustatytas tankiadyglių erškėčių 'Single Cherry' vaisių ėminiuose ($50,13 \pm 4,17$ mg GRE/g, $p < 0,05$), o brandimo metu rinktų paprastųjų erškėčių vaisių ėminiuose nustatytas spalio 7 dieną ($51,49 \pm 0,52$ mg GRE/g, $p < 0,05$), rugsėjo 23 dieną ($51,4 \pm 1,72$ mg GRE/g, $p < 0,05$) ir rugsėjo 9 dieną ($45,84 \pm 1,22$ mg GRE/g, $p < 0,05$). Stipriausiu antioksidaciniu aktyvumu, vertinant DPPH ir FRAP metodais, pasižymėjo tankiadyglių erškėčių 'Single Cherry', raukšlėtalapių erškėčių 'Adam chodun' veislių vaisių ėminių ištraukos. Ištyrus paprastųjų erškėčių vaisių ėminių ištraukas DPPH ir FRAP metodu stipriausias antioksidacinis aktyvumas nustatytas spalio 7 dieną ir rugsėjo 23 dieną. ESC metodu erškėčių vaisių ėminiuose identifikuoti fenoliniai junginiai: kavos r., chlorogeno r., kvercetas, kvercitrinas, (+)-katechinas, (-)-epikatechinas, (-)-epikatechino galatas, rutinas, florizinas, kemferol-3-O-glikozidas.

SUMMARY

R. Juodytė master's thesis. Supervisor Prof. Dr. Habil. Valdimaras Janulis; Lithuanian University of Health Sciences, Medical Academy, Faculty of Pharmacy, Department of Pharmacognosy, Kaunas.

The title: The research of the phytochemical composition of the fruits of *Rosa* (*Rosa* L.) genus plants.

The aim of the research: to determine the variation of the qualitative and quantitative composition of phenolic compounds of fruit samples of wild rose varieties grown in Lithuanian climatic conditions, and to evaluate the antioxidant activity of their extracts *in vitro*.

The objectives of the research: to determine the conditions for extraction of phenolic compounds in fruit samples of wild rose varieties grown in Lithuania; to investigate the variation of hydroxycinnamic acid derivatives, flavonoids, total variation of phenolic compounds in fruit samples of wild rose varieties by spectrophotometric method; to evaluate the antioxidant activity of fruit samples of wild rose varieties grown in Lithuania *in vitro* by spectrophotometric method; to determine the qualitative and quantitative composition of phenolic compounds in fruit samples of wild rose varieties by high-performance liquid chromatography;

The object and methods of the research: fruit samples of wild rose varieties grown in Lithuanian climatic conditions. The total content of phenolic compounds, hydroxycinnamic acid derivatives, flavonoids and antioxidant activity *in vitro* were determined using spectrophotometric methods. Quantitative and qualitative composition of phenolic compounds was determined by high-performance liquid chromatography.

The results and conclusions of the research: The highest amount of total phenolic compounds were determined in the fruit samples of the *Rosa pimpinellifolia* L. "Single Cherry" (50.13 ± 4.17 mg GRE/g, $p < 0.05$) and were determined on 7 October (51.49 ± 0.52 mg GRE/g, $p < 0.05$), 23 September (51.4 ± 1.72 mg GRE/g, $p < 0.05$) and 9 September (45.84 ± 1.22 mg GRE/g, $p < 0.05$) in the fruit samples of the *Rosa canina* L. collected during the period of ripening. When using DPPH and FRAP methods, the strongest antioxidant activity was determined in the extracts of fruit samples of the *Rosa pimpinellifolia* L. variety "Single Cherry" and *Rosa rugosa* variety "Adam chodun". The strongest antioxidant activity was determined in the extracts of fruit samples of the *Rosa canina* L. on 7 October and 23 September by the DPPH and FRAP method. Caffeic acid, chlorogenic acid, quercetin, quercitrin, (+)-catechin, (-)-epicatechin, (-)-epicatechin gallate, rutin, phlorizin, kaempferol-3-O-glucoside were identified by HPLC method.

SANTRUMPOS

CRB – C reaktyvinis baltymas;

CRE – chlorogeno rūgšties ekvivalentas;

COX – ciklooksigenazė;

DPPH – 2,2-difenil-1-pikrilhidrazilo radikalas;

DNR – deoksiribonukleorūgštis;

ESC – efektyvioji skysčių chromatografija;

FRAP – geležies (III) jonų redukcijos antioksidantinė galia (angl. ferric reducing antioxidant power);

GRE – galo rūgšties ekvivalentas;

LOX – lipoksigenazė;

RE – rutino ekvivalentas;

TE – trolokso ekvivalentas;

TPTZ – 2,4,6-tri(2-piridil)-s-triazinas;

IVADAS

Pagal Pasaulio sveikatos organizacijos duomenis, vis daugiau žmonių naudoja augalinius vaistinius preparatus ir maisto papildus [46]. Augalinės kilmės preparatai naudojami žmogaus sveikatos būklei gerinti, ligų prevencijai ir gydymui [20]. Natūralūs biologiškai aktyvūs junginiai pasižymi įvairiu biologiniu poveikiu žmogaus organizmui, naudojami virškinimo trakto ir tulžies sistemos, širdies ir kraujagyslių sistemos, kvėpavimo takų, nervų sistemos sutrikimams, odos ligoms gydyti [25, 28, 39]. Ilgai, per dažnai, netinkamai naudojami augaliniai produktai gali sukelti nepageidaujamą poveikį – alergines reakcijas, kepenų, inkstų ir širdies pažeidimus. Nepageidaujamas reakcijas gali sukelti ir nekokybiškas produktas, pagamintas iš prastos kokybės vaistinės augalinės žaliavos, neteisingai identifikuotos žaliavos ar netinkamo apdorojimo būdo [36]. Kokybiška augalinė žaliava užtikrina saugų ir efektyvų vaistinio preparato vartojimą [46]. Vienas iš kokybės užtikrinimo procesų – vaistinės augalinės žaliavos fitocheminės sudėties tyrimai.

Erškėčiai plačiai paplitę visoje Europoje, Azijoje, Šiaurės Amerikoje, Vidurio Rytuose [1, 4, 15]. Erškėčių vaisiai kaupia įvairius biologiškai aktyvius junginius, todėl augalinė žaliava plačiai naudojama maisto pramonėje ar medicininiais tikslais [24, 30]. Atliekami tyrimai, kurių metu bandoma iš dalies ar visiškai pakeisti kai kuriuos maisto priedus naudojant erškėčių vaisius [43]. Klinikinių tyrimų metu įrodyta, kad erškėčių vaisių augalinė žaliava, esanti maisto papildų sudėtyje, sumažina osteoartrito simptomus [40]. Erškėčių vaisiai naudojami kaip vaistinė augalinė žaliava arbatų, uogienių, jogurto, sirupų ar vyno gamyboje [25].

Erškėčių vaisiuose nustatyti vitaminai – askorbo rūgštis, tokoferolis, kalciferolis, retinolis. Vaisiai kaupia mineralines medžiagas – azotą, fosforą, kalį, kalcį, magnį, geležį, varį, manganą, cinką [5, 7, 25]. Augalinėje žaliavoje nustatyti karotenoidai, flavonoidai, fenolinės rūgštys, glikolipidai, taninai, pektinai, cukrūs, eteriniai aliejai [11, 24, 32]. Erškėčių vaisiai – fenolinių junginių šaltinis, pasižymi antioksidaciniu, analgetiniu, kardioprotekcinu, antidiabetiniu, priešmikrobinu, priešvėžiniu poveikiu [4, 15, 33].

Darbo naujumas. Moksliniuose straipsniuose yra duomenų apie erškėčių vaisių fitocheminę sudėtį, tačiau trūksta informacijos apie Lietuvoje kultivuojamus erškėčius ir jų vaisių naudojimą vykdant vaistinių augalinių žaliavų paruošas. Pirmą kartą atlikti Lietuvoje auginamų skirtingų veislių raukšlėtalapių erškėčių ('Rudolf', 'Dart's Defender', 'Marie Bugnet', 'Fru Dagmar Hastrup', 'Kornik', 'Adam chodun'), gausiažiedžių erškėčių ('Nana') ir tankiadyglių erškėčių ('Papula', 'Single Cherry') vaisių fenolinių junginių kokybinės ir kiekybinės sudėties tyrimai. Tyrimų metu nustatytas bendras fenolinių junginių, hidroksicinamono rūgšties darinių ir flavonoidų kiekinės sudėties įvairavimas erškėčių vaisių ėminiuose,

šių junginių įvairavimas vaisių brandimo metu, bei įvertintas žaliavos antioksidacinis aktyvumas *in vitro*. Atsižvelgiant į gautus rezultatus, bus galima pasirinkti augalų veisles, kurios kaupia daugiausiai biologiškai aktyvių junginių ir paruošti kokybišką vaistinę augalinę žaliavą.

Darbo tikslas. Ištirti Lietuvos klimato sąlygomis auginamų veislių ertškėčių vaisių ėminių fenolinių junginių kokybinės ir kiekybinės sudėties įvairavimą bei įvertinti jų ištraukų antioksidacinį aktyvumą *in vitro*.

DARBO TIKSLAS IR UŽDAVINIAI

Darbo tikslas – ištirti Lietuvos klimato sąlygomis auginamų veislių erškėčių vaisių ėminių fenolinių junginių kokybinės ir kiekybinės sudėties įvairavimą bei įvertinti jų ištraukų antioksidacinį aktyvumą *in vitro*.

Darbo uždaviniai:

1. Nustatyti Lietuvoje auginamų veislių erškėčių vaisių ėminių fenolinių junginių ekstrakcijos sąlygas.
2. Ištirti fenolinių junginių kiekio įvairavimą skirtingų veislių erškėčių vaisių ėminiuose, taikant UV–regimosios šviesos spektrofotometrijos metodą.
3. Įvertinti Lietuvoje auginamų skirtingų veislių erškėčių vaisių ėminių ištraukų antioksidacinį aktyvumą *in vitro*, taikant UV–regimosios šviesos spektrofotometrijos metodą;
4. Nustatyti fenolinių junginių kokybinę ir kiekybinę sudėtį skirtingų veislių erškėčių vaisių ėminiuose ultra–efektyviosios skysčių chromatografijos metodu.
5. Įvertinti skirtingų veislių erškėčių vaisių ėminių koreliacinius ryšius tarp bendro fenolinių junginių kiekio ir antioksidacinio aktyvumo *in vitro*.

1. LITERATŪROS APŽVALGA

1.1. Erškėčių (*Rosa* L.) genties augalų apibūdinimas, paplitimas, morfologiniai požymiai

Karalystė: Augalai – *Plantae*;

Skyrius: Magnolijūnai – *Magnoliophyta*;

Klasė: Magnolijainiai – *Magnoliopsida*;

Poklasis: Erškėčiažiedžiai – *Rosidae*;

Eilė: Erškėtiečiai – *Rosales*;

Šeima: Erškėtiniai – *Rosaceae* Juss.;

Pošeimis: Erškėtrožiniai – *Rosoideae* Juss. ex Arn.;

Gentis: Erškėčiai – *Rosa* L.;

Erškėtiniai (*Rosaceae* Juss.) yra gaubtasėklių augalų šeima, kurią sudaro apie 100 genčių ir 2830–3100 įvairių augalų rūšių [21]. Erškėčių (*Rosa* L.) genčiai priklauso apie 150 įvairių rūšių, tačiau Lietuvoje aptinkamos tik 8 savaimė paplitusios rūšys [2, 3, 4]. Lietuvoje labiausiai paplitusios erškėčių rūšys, kurių vaisiai naudojami medicinos praktikoje, yra raukšlėtalapė (*Rosa rugosa* Thunb.), miškinis (*Rosa majalis* Herrm.) ir paprastasis erškėtis (*Rosa canina* L.) [2, 3].

Rosa L. genties augalai plačiai paplitę Azijoje, Europoje, Vidurio Rytuose ir Šiaurės Amerikoje [1, 4, 15, 23]. Erškėčiai pamėgti sodininkų, nes nereikalauja specialios priežiūros ir gali augti nederlingame dirvožemyje, esant ribotam vandens kiekiui, uolėtoje vietoje [4]. Erškėčių krūmai gali būti medžio formos, laipiojantys ar šliaužiantys. Stiebai dygliuoti, labai retai pliki. Lapai neporomis plunksniškai ir spirališkai prisegti, su prielapiais [1, 3, 4]. Žiedai pavieniai ar susitelkę skėtiškose kekėse, dvyličiai, turi dvigubą apyžiedį. Taurėlapiai ištisiniai arba išoriniai plunksniškai susiskaldę. Vainiklapiai balti, geltoni, rožiniai ar raudoni. Kuokelių daug ir jie prisegti prie žiedsosčio pakraščio. Piestelės prisegtos prie žiedsosčio dugno. Mezginė plaukuota, su vienu sėklapradžiu. Purka plika ar plaukuota, galvutės pavidalo [1, 3]. Erškėčių vaisiai maži, sausi, apgaubti mėsingos, viduje plaukuotos hipantijos [1, 3, 29]. Vaisiai prinoksta rugpjūtį ir laikosi iki pirmųjų šalnų. Erškėčių vaisiai gali būti raudonos, oranžinės ar net juodos spalvos [1, 3, 4, 8].

1.2. Erškėčių rūšių apibūdinimas ir morfologiniai požymiai

Raukšlėtalapis erškėtis (*Rosa rugosa* Thunb.) paplitęs Tolimuosiuose Rytuose, Šiaurės Kinijoje, Korėjoje, Japonijoje, visoje Lietuvoje. Auginamas dekoratyviniuose želdynuose, gali augti smėlio ar žvyro paplūdimiuose, taip pat gerai auga pievose, pakelėse. Dirvožemiui nereiklus, šviesą mėgstantis augalas, atsparus ligoms ir įvairiems kenkėjams [3, 25].

Raukšlėtalapis erškėtis gali užaugti iki 2 m aukščio ir 1–3 metrų pločio. Krūmas tankus, pusrutuliškos formos. Stiebai ir šakos gausiai apaugusios įvairaus dydžio, nežymiai išlenktais dygliukais. Lapai 10–20 cm ilgio, sudaryti iš 5–9 apskritų arba elipsiškų lapelių. Lapeliai smailūs, stori, neaštriai dantyti, su įspaustinėmis gyslomis, raukšlėti. Lapų paviršius tamsiai žalios spalvos, viršutinė lapo pusė raukšlėta, plika, blizganti, o apatinė pusė šviesesnė, padengta smulkiais plaukeliais ir šiek tiek lipni. Prielapiai platūs, apatinė pusė apaugusi balkšvais plaukeliais. Lapkočiai plaukuoti, gali būti dygliukų. Žiedai dideli apie 8–10 cm skersmens, pavieniai ar po 3–6 susitelkę į žiedynus, kvapnūs. Žiedkočiai 1–2,5 cm ilgio, dažnai turi liaukutes ir gali būti plaukuoti arba pliki. Taurėlapiai 2–4 cm ilgio, padengti liaukiniais plaukeliais arba pliki. Vainiklapiai dideli, šviesiai rausvos, tamsiai rožinės, raudonos spalvos, rutuliški, 2–2,5 cm skersmens. Žydėjimas prasideda birželio pabaigoje ir trunka iki rugpjūčio mėnesio. Vaisiai gana dideli, rutuliški, apie 25 mm skersmens, turintys gana storą minkštimo sluoksnį, blizgūs, tamsiai raudonos spalvos, saldaus skonio [1, 3, 25].

Tankiadyglis erškėtis (*Rosa pimpinellifolia* L.) paplitęs Vidurio Europoje, Viduržemio jūros kraštuose, Kinijoje, Korėjoje, Pietvakarių ir Centrinėje Azijoje [3, 25]. Dažnai auginamas Lietuvoje, plinta savaime. Paplitęs saulėtose vietose, lengvo tipo dirvožemiuose [1, 3].

Tankiadyglis erškėtis yra nedidelio aukščio daugiametis krūmas, kuris gali siekti nuo 1 iki 1,5 metro į aukštį ir į plotį, priklausomai nuo vietovės. Šakos tankios ir stačios, apaugusios įvairaus dydžio dygliukais ir šereliais. Dygliai tiesūs, tankūs ir ploni. Lapai nedideli, 5–6 cm ilgio, juos sudaro 5–9 lapeliai. Lapeliai buki, dantyti, pliki, apskriti ar ovalūs, dažniausiai 0,8–1,2 cm ilgio, viršutinė pusė tamsiai žalia, o apatinė šviesiai žalios spalvos. Prielapiai siauri, pliki, rečiau pakraštyje liaukingi. Žiedai pavieniai, maži, 3–5 cm skersmens, baltos ar rausvai baltos spalvos, kvapnūs. Žiedkočiai 2–3 cm ilgio, lygūs ar apaugę adatiškais dygiais, liaukingi. Žydėjimas trunka nuo gegužės iki birželio mėnesio. Vaisiai apskriti, 1 cm skersmens, juosvi, turi stačius taurėlapius, juodos ar raudonai juodos spalvos, neįprasto saldumo ir malonaus skonio. Vaisiuose esančias sėklas dengia smulkių plaukelių sluoksnis. Plaukeliai gali sukelti dirginimą tiek burnoje, tiek visame virškinimo trakte. Tankiadyglis erškėtis pražysta anksčiausiai iš visų erškėčių rūšių [1, 3].

Gausiažiedis erškėtis (*Rosa multiflora* Thunb.) paplitęs Korėjoje, Japonijoje. Lietuvoje auginamas soduose, parkuose. Gali augti vidutinio saulėtumo vietovėse ar pavėsyje [3].

Gausiažiedis erškėtis yra daugiametis laipiojantis krūmas, šakos 2–3 metrų ilgio. Stiebai šakoti, susipainioję tarpusavyje ir padengti dygliukais. Lapus sudaro 7–9 lapeliai, jie kiaušiniškos formos, pjūkliški, tamsiai žalios spalvos, viršutinis paviršius blizgantis, o apatinė pusė blyški ir apaugusi smulkiais plaukeliais. Prielapiai siauri, pakraštyje šukiškai susiskaldę. Žiedkočiai 1–2 cm ilgio, plaukuoti. Žiedai smulkūs, iki 3 cm skersmens, gausūs, baltos ar šviesiai rausvos spalvos, susitelkę viršūniniuose kūgiškuose žiedynuose, dažnai būna pilnaviduriai. Žydi birželio – liepos mėnesį, gausiai, bet trumpai. Vaisiai 6–8 mm raudonos ar tamsiai oranžinės spalvos, nedideli, kiaušiniški ar apvalūs, sėklos bręsta nuo rugpjūčio iki spalio mėnesio [1, 3].

Paprastasis erškėtis (*Rosa canina* L.) paplitęs Europoje, Šiaurės Afrikoje, Kaukaze, Mažojoje Azijoje. Dažniau aptinkamas pietinėje Lietuvos dalyje, auga pamiškėse, šlaituose, pakelėse, pagrioviuose. Šviesomėgis ir atsparus šalčiui. Augalas geriausiai auga vidutinio drėgnumo, derlinguose dirvožemiuose [3].

Paprastasis erškėtis yra 2–3 m aukščio, lankiškai išsilenkusiomis šakomis, dygliuotas [3, 13, 15]. Dygliai prie pagrindo praplatėję, tvirti, reti, dažniausiai pavieniai ir pjautuviškai išlinkę. Lapus sudaro 5–9 lapeliai, kurie yra elipsiški, 2–2,5 cm ilgio, nusmailėję, liaukingai pjūkliški, šiek tiek blizgantys, sudėtiniai ir prie pagrindo plaukuoti. Lapkotis plikas, retai plaukuotas. Prielapiai siauri, pakraštyje su liaukinėmis blakstienėlėmis. Žiedai dideli, 2–3 cm skersmens, pavieniai arba skėtiškuose žiedynuose po 3–5, šviesiai rožinės ar baltos spalvos [2, 3, 13, 15]. Žiedkočiai ilgi, 1–2 cm ilgio ir dažniausiai pliki. Taurėlapiai plunksniškai išsišakoję, ilgesni už vainiklapius. Augalas žydi gegužės – birželio mėnesiais. Vaisiai pailgos ar apvalios formos, 1,5–2,5 cm ilgio, blizgantys, šviesiai ar ryškiai raudoni, juose daug sėklų, paviršius lygus. Vaisiai prinoksta rugpjūčio – rugsėjo mėnesiais. [2, 3].

1.3. Erškėčių vaisių cheminės sudėties tyrimai

Erškėčių vaisiai yra polivitamininė žaliava, kurioje didžiausias askorbo rūgšties kiekis nustatomas, kai obuolėliai yra pilnai subrendusiame brandos etape, jo kiekis net šešis kartus didesnis nei apelsinuose [31]. Mokslinės literatūros duomenimis, nustatytas askorbo rūgšties kiekis erškėčių vaisiuose varijuoja nuo 30 iki 1300 mg/100 g [33]. Užsienio šalių mokslininkai nustatė, kad 230 g šviežių arba 275g džiovintų

paprastųjų erškėčių vaisių atitinka rekomenduojamą askorbo rūgšties dienos dozę (90mg) suaugusiam vyrui [30]. Erškėčių vaisių ėminiuose identifikuoti ir kiti vitaminai: tokoferolis (18,79–79,73 mg/100 g), tiaminas, riboflavinas, piridoksinas, kalCIFerolis, retinolis [7, 25].

Erškėčių vaisiuose nustatyti karotenoidai yra β -karotenas (102,72–236,23 $\mu\text{g/g}$), likopenas (164,92–218,64 $\mu\text{g/g}$), rubiksantinas (15,75–30,95 $\mu\text{g/g}$), zeaksantinas ir liuteinas (10,46–14,47 $\mu\text{g/g}$), neoksantinas (6,14 $\mu\text{g/g}$), violaksantinas (1,72 $\mu\text{g/g}$) [5, 6, 8, 25]. Karotenoidų kiekis vaisiuose skiriasi priklausomai nuo erškėčių rūšies ir derliaus nuėmimo laiko. Mokslininkai analizavo trijų erškėčių rūšių (melsvalapių erškėčių, grūdėtųjų erškėčių, tankiadyglių erškėčių) karotenoidų kiekio įvairumą vaisių ištraukose. Didžiausias bendras karotenoidų kiekis nustatytas melsvalapių erškėčių vaisių etanolinėse ištraukose 1590,4 $\mu\text{g/g}$, o mažiausias kiekis tankiadyglių erškėčių vaisių ištraukose 684,5 $\mu\text{g/g}$. Didžiausias karotenoidų junginių kiekis nustatytas pilnai prinokusių vaisių ėminiuose. Rugpjūčio mėnesį surinktų vaisių ėminiuose bendras karotenoidų kiekis varijavo nuo 54,13 iki 101,24 $\mu\text{g/g}$, o spalio mėnesį nustatytas 893,9–1008,15 $\mu\text{g/g}$ [6].

Erškėčių vaisių ėminiuose nustatytos fenolinės rūgštys ir flavonoidai, kurie priskiriami fenoliniams junginiams. Mokslinės literatūros šaltiniuose nurodoma, kad erškėčių vaisiuose nustatytos fenolinės rūgštys yra galo, 4-hidroksibenzoinė, kaftaro, 2,5-dihidroksi benzoinė, chlorogeno, vanilino, kavos, p-kumaro, ferulo rūgštis [30]. Erškėčių vaisiuose nustatyti vyraujantys flavonoidų junginiai yra katechinas, epikatechinas, apigeninas, rutinas, amentoflavonas, kemferol-3-O-gliukozidas, kvercitrinas, kvercetin-3-O-gliukozidas, hesperidinas, eriodiktiolis, hiperozidas, taksifolinas [5, 18, 30]. Demir ir kt. (2014) tyrė skirtingų rūšių erškėčių vaisių ėminių kokybinę ir kiekybinę sudėtį [11]. Suminis fenolinių junginių kiekis, naudojant ESC–DAD sistemą, nustatytas vaisių ištraukose buvo 31–52 mg/g, tačiau kitame atliktame tyrime nustatytas suminis šių junginių kiekis 6,63–96,2 mg/g [11, 30]. Erškėčių vaisiuose nustatyti dominuojantys junginiai yra 4-hidroksibenzoinė rūgštis (3,92–56,14 $\mu\text{g/g}$), (+)-katechinas (7,18–50,46 $\mu\text{g/g}$), procianidinas (7,54–54,41 $\mu\text{g/g}$) ir galo rūgštis (7,7–12,93 $\mu\text{g/g}$) [11,30].

Mokslinės literatūros šaltiniuose aprašyta, kad erškėčių vaisiuose nustatytos organinės rūgštys ir cukrūs. Erškėčių vaisiuose vyrauja šios organinės rūgštys: citrinų (4,76–9,12 g/100g sausų vaisių) ir obuolių (0,45–1,1 g/100g sausų vaisių) [11]. Wang ir kt. (2018) nustatė erškėčių vaisiuose esančius monosacharidus: arabinozė 33,8 proc., galaktozė 37,3 proc., gliukozė 20,7 proc., manozė 1,74 proc., ksilozė 3,43 proc. ir fruktozė 2,95 proc. Vyraujantys monosacharidai erškėčių vaisiuose yra arabinozė, galaktozė ir gliukozė [45]. Gliukozės kiekis nustatytas vaisiuose varijuoja nuo 9,54 iki 17,25 g/100g, o fruktozės kiekis nuo 9,54 iki 17,25 g/100g. Augalo rūšis, veislė apsprendžia jo cheminės sudėties ypatumus [11, 45]. Bendras angliavandenių kiekis nustatytas vaisiuose yra 63,79 proc. [45].

Erškėčių vaisių cheminė sudėtis įvairuoja priklausomai nuo augalo rūšies ir veislės. Aplinkos veiksniai, tokie kaip temperatūra, šviesa, dirvožemio maistinės medžiagos, vaisių brandos etapai gali turėti įtakos fenolinių junginių kiekio įvairavimui erškėčių vaisiuose [11, 30].

1.4. Erškėčių vaisiuose kaupiamų biologiškai aktyvių junginių poveikio tyrimai

Antioksidacinis poveikis: epidemiologinių tyrimų duomenimis, mityboje esantys antioksidantai gali surišti laisvuosius radikalus ir apsaugoti ląsteles nuo oksidacinio streso sukeltų pažeidimų [28, 30, 35]. Vartojant maistą, praturtintą fenoliniais junginiais, sumažėja rizika susirgti ligomis, kurias sukelia oksidacinis stresas, pvz., širdies ir kraujagyslių ligos [30, 35]. Fenolinių junginių antioksidacinis aktyvumas susijęs su tiesioginiu laisvųjų radikalų šalinimo gebėjimu ir netiesioginiu poveikiu, atsirandančiu dėl prooksidanto metalo jonų chelacijos [30, 9]. Aksorbo rūgštis, elektronų donoras, yra stiprus vandenyje tirpus antioksidantas. Stiprios sinergistinės sąveikos fenolinių junginių, askorbo rūgšties, kitų biologiškai aktyvių junginių turi reikšmės antioksidantiniam aktyvumui. Literatūros šaltinių duomenimis, paprastųjų erškėčių vaisių ėminių ištraukos pasižymi didesniu antioksidaciniu aktyvumu negu slyvų, braškių, gervuogių ir gudobelių vaisių ištraukos [30].

Antioksidacinį aktyvumą Fascella ir kt. (2019) nustatė taikydami du tyrimus: deguonies radikalų absorbcijos pajėgumo nustatymą ORAC metodu ir laisvųjų radikalų surišimo gebą DPPH metodu. Tyrimo objektai: paprastųjų erškėčių, pakrūminių erškėčių, gausiažiedžių erškėčių ir *R. sempervirens* L. vaisiai. Stipriausias antioksidacinis aktyvumas DPPH metodu nustatytas ištyrus *R. sempervirens* L. vaisių ėminių ištraukas ($27,1 \pm 4,4$ $\mu\text{mol TE/g}$), silpniausias antioksidacinis aktyvumas nustatytas ištyrus pakrūminių erškėčių vaisių ėminių ištraukas ($113,8 \pm 7,4$ $\mu\text{g/ml}$). ORAC metodu nustatytas silpniausias antioksidacinis aktyvumas ištyrus pakrūminių erškėčių ($2726,68$ $\mu\text{mol TE/g}$) ir gausiažiedžių erškėčių vaisių ėminių ištraukas ($3761,11$ $\mu\text{mol TE/g}$), o stipriausias antioksidacinis aktyvumas nustatytas ištyrus paprastųjų erškėčių ir *R. sempervirens* L. vaisių ėminių ištraukas ($4493,64$ ir $4576,77$ $\mu\text{mol TE/g}$). Nustatyta teigiama koreliacija tarp ORAC metodo gautų rezultatų ir vaisiuose esančių fenolinių junginių kiekio. Paprastųjų erškėčių ir *R. sempervirens* L. vaisių ėminiuose nustatytas didelis suminis fenolinių junginių kiekis, o jų ištraukos pasižymėjo stipriu antioksidaciniu aktyvumu. Pakrūminių erškėčių ir gausiažiedžių erškėčių vaisių ėminiuose nustatytas mažas suminis fenolinių junginių kiekis, o jų ištraukos pasižymėjo silpnu antioksidaciniu aktyvumu. Koreliacija tarp fenolinių junginių kiekio ir antioksidacinio aktyvumo priklauso

nuo įvairių veiksnių, pavyzdžiui, fenolinių junginių cheminės struktūros, jų tarpusavio sąveikų, tyrimo analizės sąlygų [13].

Uždegimą slopinantis poveikis: įrodyta, kad klinikinių tyrimų metu erškėčių vaisių preparatai sumažina reumatoidinio artrito sukeltus simptomus [26, 28, 40, 44]. Poveikis susijęs su dideliu kiekiu uždegimą slopinančių molekulių, pavyzdžiui, galaktolipidai (mono- ir diglicerolių glikozidai), kurie mažina neutrofilų ir monocitų chemotaksį, taip pat sumažina reaktyviojo baltymo C (CRB) kiekį [28]. Gruenwald ir kiti mokslininkai (2019) nustatė paprastųjų erškėčių vaisių veikimo mechanizmus gydant osteoartritą [18]. Vaisiuose esančios biologiškai aktyvios medžiagos mažina uždegimą skatinančių citokinų, chemokinų ir makrofagų gamybą, slopina NF- κ B faktoriaus signalą, prieš uždegiminius fermentus COX-1, COX-2, 5-LOX ir 12-LOX, prostaglandino E sintezę. Kasdien vartojami smulkinti erškėčių vaisiai 12 savačių (5 g per parą tris savaites, vėliau 2,5 g per parą 9 savaites) reikšmingai sumažino C reaktyvaus baltymo, uždegimo rodiklio, kiekį kraujyje [18, 28].

Uždegimą mažinantis poveikis pasireiškia dėl riebalų rūgščių darinių (linolo, alfa-linolenų ir oleino rūgštys), triterpeninių junginių (ursolo, oleanolo, betulino rūgštys), fenolinių junginių poveikio. Mokslininkai nustatė, kad yra tam tikra koreliacija tarp padidėjusios arachidono rūgšties metabolitų ir įvairių ligų paplitimo ir progresavimo. Arachidono rūgšties kaskadoje COX ir LOX fermentai gamina stiprius uždegiminius mediatorius. Tyrimai parodė, kad erškėčių vaisiai mažina CO-1 ir 12-LOX aktyvumą ir taip slopina prostaglandinų gamybą [30]. Arachidono rūgšties kaskados slopinimas labai svarbus ne tik uždegiminių ligų gydymui, bet ir tam tikrų rūšių širdies ir kraujagyslių, bei onkologinių ligų gydymui [18, 30].

Antidiabetinis poveikis: erškėčių vaisiai dėl sudėtyje esančio gausaus antioksidantų kiekio gali būti naudojami cukrinio diabeto papildomam gydymui [14, 28, 32, 45]. Biologiškai aktyvūs junginiai (askorbo rūgštis, fenolinės rūgštys, flavonoidai) slopina oksidacinį stresą organizme ir tokiu būdu apsaugo kasos β -ląsteles, kurias toksiškai veikia hiperglikemija [37]. Mokslininkai vertino paprastųjų erškėčių vaisių ištraukų apsauginį poveikį β -ląstelėms. Nebuvo patvirtinta, kad erškėčių vaisių ištraukos slopintų streptosocino sukeltą kasos β TC6 ląstelių linijos mirtį, tačiau žymiai padidino β TC6 ląstelių linijos proliferaciją, palyginti su kontrolinėmis ląstelėmis [14]. Gauti tyrimų rezultatai patvirtina, kad paprastųjų erškėčių vaisių ištraukos veikia kaip kasos β -ląstelių linijos augimo faktorius ir gali būti naudojamas kaip papildoma natūrali medžiaga antidiabetiniam poveikiui [14, 28]. Kito atlikto tyrimo su žiurkėmis rezultatai parodė, kad paprastųjų erškėčių vaisių ištraukos statistiškai reikšmingai sumažina gliukozės kiekį kraujyje cukriniu diabetu sergančioms žiurkėms, pasižymi hipoglikeminiu poveikiu [37].

Antibakterinis poveikis: moksliniuose straipsniuose nurodoma, kad erškėčių vaisių ištraukos pasižymi antibakteriniu poveikiu [16, 23, 34]. Erškėčių vaisiuose esantys fenoliniai junginiai slopina mikroorganizmų augimą, veikia antimikrobiškai. Flavonoidai sudarydami kompleksus su tarpląsteliniais ir tirpiaisiais baltymais bakterijų ląstelių sienelėse slopina bakterijų dauginimąsi. Taninų antibakterinis aktyvumas gali būti susijęs su jų gebėjimu inaktyvinti mikrobų fermentus ir baltymus mikroorganizmų ląstelių viduje [16]. Antibakterinio poveikio tyrimą atliko Seifi ir kt. (2017) nustatant paprastųjų erškėčių vaisių kapsulių poveikį gydant šlapimo takų infekcijas. Tyrime dalyvavo moterys po cezario pjūvio operacijų, kurioms yra padidėjusi rizika susirgti šlapimo takų infekcija. Nustatyta, jog praėjus 7–10 dienų po operacijos, tik 4 pacientams iš 193 pasireiškė šlapimo takų infekcijos, kurie vartojo erškėčių vaisių kapsules, o kontrolinėje grupėje susirgo 17 iš 195 pacientų. Praėjus 20 dienų po cezario pjūvio operacijos nustatytas dar didesnis skirtumas tarp vartojančių vaisių kapsules (4,3 proc. susirgimų) ir nevartojančių pacientų (12,2 proc. susirgimų). Teigiamas poveikis gydant infekciją galėjo būti dėl askorbo rūgšties, esančios kapsulių sudėtyje, ir jos antioksidacinių savybių. Kartu vartojami nitritai ir askorbo rūgštis slopina *E. coli*, *Pseudomonas aeruginosa* ir *Staphylococcus saprophyticus* šlapimo takų infekcijas sukeliančių bakterijų padermių augimą. Remiantis tyrimo rezultatais, paprastųjų erškėčių vaisiai pasižymi teigiamu poveikiu užkertant kelią šlapimo takų infekcijos atsiradimui, gali būti naudojami kaip nebrangi ir tinkama priemonė stiprinti organizmą [34]. Antibakterinis aktyvumas skiriasi priklausomai nuo erškėčių rūšies. Atlikto tyrimo duomenimis, paprastųjų erškėčių vaisiai kaupia didesnę fenolinių junginių (102 mg GRE/g) ir askorbo rūgšties (840 mg/100 g) kiekį lyginant su gauruotųjų erškėčių, stambiavaisių erškėčių, melsvalapių erškėčių vaisiais. Stipriausias antioksidacinis aktyvumas nustatytas ištyrus paprastųjų erškėčių vaisių ištraukas lyginant su minėtų rūšių erškėčių vaisių ištraukomis [23].

Erškėčių vaisių preparatų panaudojimas odos ligų gydymui: medicinoje erškėčių vaisių aliejus naudojamas žaizdomas ir randams, aknės gydymui, pigmentacijos mažinimui [22, 27, 32, 42]. Aliejus spaudžiamas iš erškėčių vaisių sėklų. Gydomasis preparatų poveikis odai pasireiškia dėl vaisių sėklose kaupiamų biologiškai aktyvių junginių: polinesočiųjų riebalų rūgščių (linolo rūgščių 50 proc., linoleno rūgščių 19,37 proc., oleino rūgščių 19,50 proc.), sočiųjų riebalų rūgščių (palmitino, arachidono ir stearino rūgščių) ir kitų atyvių junginių (trans-retinoinė rūgštis) [22, 27, 42]. Polinesočios ir sočiosios riebalų rūgštys dalyvauja ląstelių membranų pralaidumo ir gijimo procesuose. Atlikto tyrimo metu dermatologas vertino erškėčių vaisių aliejaus poveikį 108 pacientams, kuriems buvo atlikta odos navikų šalinimo procedūra. Po 12 savaičių naudojant ir nenaudojant erškėčių vaisių aliejų buvo gauti reikšmingi rezultatai. Pacientams, kurie naudojo aliejų, 73 proc. eritema nebuvo nustatyta, o kontrolinėje grupėje nenustatyta eritema 50 proc. Tyrimų rezultatai parodė, kad erškėčių vaisių aliejus skatina greitesnį žaizdų ir randų gijimą [42]. Kito

atlikto tyrimo metu erškėčių vaisių sėklų aliejus sumažino uždegiminių ląstelių infiltraciją, paskatino greitesnį fibroblastų dauginimąsi, kolageno gamybą ir angiogenezės procesą. Nustatyta, kad erškėčių vaisių aliejus pasižymi gydomuoju poveikiu ir skatina randų nykimą [27].

Citotoksinis poveikis: etanolinės erškėčių vaisių ištraukos pasižymi citotoksiniu poveikiu vėžinėms ląstelėms, randamoms žmogaus storojoje žarnoje, gimdos kaklelyje ir krūtyse [10, 28, 41, 44]. Manoma, kad antioksidantai pasižymi chemopreveciniu poveikiu, kontroliuoja visą ląstelių ciklą, augimo ir proliferacijos procesus. Antioksidantai slopina kancerogenų įsisavinimą, skatina deaktyvaciją, stimuliuoja DNR atstatymo mechanizmus, bei skatina apoptozę naviko ląstelėse [28, 35]. Užsienio mokslininkai atliko tyrimą su žmogaus gaubtinės žarnos karcinomos ir normaliomis ląstelėmis. Gautų rezultatų duomenimis, paprastųjų erškėčių vaisių ištraukos pasižymi selektyviu citotoksiškumu gaubtinėje žarnoje esančioms vėžio ląstelėms lyginant su gaubtinės žarnos normaliomis ląstelėmis. Paprastųjų erškėčių vaisių ištraukos, priklausomai nuo dozės, sumažino gyvybingų vėžinių ląstelių skaičių ir padidino vėlyvųjų ir ankstyvųjų apoptopinių ląstelių skaičių, lyginant su negydomomis ląstelėmis ($p < 0.05$) [41]. Kitas mokslinis tyrimas atliktas *in vitro* su žmogaus sveikomis ląstelėmis ir trijų naviko ląstelių linijomis naudojant melsvalapių erškėčių, patvorinių erškėčių, *R. sempervirens* vaisių ištraukas. Kaip standartas pasirenkamas podofilotoksinas, labai stiprus natūralus citotoksinas. Eksperimento metu erškėčių vaisių ištraukos slopino naviko ląstelių augimą, nustatytas vidutinis citotoksinis aktyvumas lyginant su podofilotoksinu. Poveikis naviko ląstelėms buvo priklausomas nuo dozės. Svarbu pabrėžti, kad nė viena iš tiriamų ištraukų nepaveikė sveikų ląstelių augimo [10, 29]. Gauti rezultatai skatina tolesnius erškėčių vaisių citotoksinės veiklos tyrimus, kaip galimai naują citotoksinių medžiagų šaltinį [29].

1.5. Literatūros apžvalgos apibendrinimas

Moksliniuose straipsniuose yra aprašyta erškėčių genties augalų vaisių fitocheminės sudėties tyrimų. Paskelbta mokslinių publikacijų apie erškėčių vaisiuose kaupiamus biologiškai aktyvius junginius: karotenoidus, flavonoidus, fenolines ir organines rūgštis. Erškėčių vaisiai pasižymi plačiu biologinio poveikio spektru, įskaitant antioksidacinį aktyvumą, antidiabetinį, antibakterinį, citotoksinį, dermatologinį ir uždegimą slopinantį poveikį.

Mokslinėje literatūroje trūksta informacijos apie Lietuvoje auginamų erškėčių vaisių kokybinę ir kiekybinę sudėtį, kuri varijuoja priklausomai nuo erškėčių rūšies ir derliaus nuėmimo laiko. Skirtingų rūšių erškėčių vaisiai skiriasi fitochemine sudėtimi, gali būti nustatomi skirtingi fenolinių junginių kiekiai.

Siekiant išsiaiškinti fenolinių junginių įvairavimą tarp skirtingų erškėčių rūšių ir veislių, svarbu atlikti tyrimus fenolinių junginių kiekiui ir kokybinei sudėčiai nustatyti.

2. METODIKA

2.1. Tyrimo objektas

Raukšlėtalapių erškėčių veislės ('Rudolf', 'Dart's Defender', 'Marie Bugnet', 'Fru Dagmar Hastrup', 'Kornik', 'Adam chodun'), gausiažiedžių erškėčių veislė ('Nana') ir tankiadyglių erškėčių veislės ('Papula', 'Single Cherry') vaisių ėminiai. Buvo renkami ir tiriami paprastųjų erškėčių vaisių ėminiai, jų brandimo metu, kas dvi savaites (2019 metų liepos 1 d. – spalio 6 d.), rinkimo vieta Joniškio miesto parkas. Surinkti paprastųjų erškėčių vaisiai buvo džiovinti kambario temperatūroje, sausoje, gerai vėdinamoje patalpoje.

2.2. Naudoti reagentai

Tyrimams naudoti reagentai atitiko visus kokybės reikalavimus ir pasižymėjo analitiniu švarumu. Tyrimo metu naudota: etanolis 96 proc. (v/v) (gamintojas AB „Stumbras“, Kaunas, Lietuva), Folin-Ciocalteu reagentas („Sigma – Aldrich Chemie“, Vokietija), natrio karbonatas (Na_2CO_3) („Carl Roth GmbH“, Vokietija), galo rūgšties monohidratas („Sigma – Aldrich Chemie“, Steinheim, Vokietija), geležies chlorido heksahidratas ($\text{FeCl}_3 \times 6\text{H}_2\text{O}$), natrio acetatas (CH_3COONa) („Sigma – Aldrich Chemie“, Steinheim, Vokietija), ledinė acto rūgštis 99,8 proc. („Lachner“, Neratovicas, Čekija), 2,4,6-tripiridil-s-triazinas (TPTZ) („Alfa Aesar“, Vokietija), koncentruota druskos rūgštis („Fluka – Chemie“, Buchs, Šveicarija), troloksas (($\pm$)-6-hidroksi-2,5,7,8-tetrametilchromano-2-karboksilinė rūgštis) („Sigma–Aldrich“, Sent Luisas, JAV), DPPH (2,2-difenil-1-pikrilhidrazilas) („Sigma – Aldrich“, Vokietija), aliuminio chlorido heksahidratas („Fluka“, Vokietija), heksametilentetraminas („Sigma – Aldrich“, Anglija), rutinas („Carl Roth GmbH“, 76185, Vokietija), natrio molibdatas, natrio nitritas, natrio hidroksidas („Chempur“, Tarnovske Gurai, Lenkija); chlorogeno rūgštis, kavos rūgštis, florizinas, kvercetas, kvercitrinas, kemferol-3-O-glikozidas (+)-katechinas, (-)-epikatechinas, (-)-epikatechino galatas („Sigma-Aldrich“, Šteinheimas, Vokietija). Išgrynintas vanduo paruoštas naudojant Milli-Q® vandens gryninimo sistemą (Bedfordas, JAV).

2.3. Naudota aparatūra

Išdžiovinti erškėčių vaisių ėminiai smulkinami elektriniu malūnėliu „Retsch GM 200“ („Retsch GmbH“, Hanas, Vokietija). Susmulkinta žaliava sveriamą analitinėmis svarstyklėmis „Sartorius CP64-0CE“ („Sartorius AG“, Getingenas, Vokietija). Erškėčių vaisių ėminių ištraukoms paruošti buvo naudojama ultragarso vonelė „Bandelin Sonorex Digital 10 P“ („Sigma-Aldrich“, Darmštatas, Vokietija). Spektrofotometriniai tyrimai atlikti naudojant UV–regimosios šviesos spektrofotometrą „M550“ („Spectronic CamSpec“, Garfortas, Jungtinė Karalystė). Erškėčių vaisių ėminių ištraukų fenolinių junginių kokybinės ir kiekybinės sudėties analizė atlikta naudojant skysčių chromatografą „Waters ACQUITY UPLC® H – Class“ („Waters“, Milfordas, Masačusetsas, JAV) ir masių spektrometrinį detektorių „Xevo TQD“ („Waters“, Milfordas, Masačusetsas, JAV).

2.4. Erškėčių vaisių ėminių ekstraktų paruošimas

Žaliavos paruošimas. Erškėčių vaisiai džiovinti kambario temperatūroje, gerai vėdinamoje ir sausoje patalpoje. Išdžiovinti erškėčių vaisių ėminiai sumalti į miltelius, naudojant elektrinį malūnėlį „Retsch GM 200“. Susmulkinta žaliava laikyta tamsioje ir sausoje vietoje, sandariai uždarytuose induose.

Nuodžiūvio nustatymas. Visiems erškėčių vaisių ėminiams nustatytas nuodžiūvis pagal Europos farmakopėjoje nurodytą metodą (Ph. Eur. 2.2.32). Tiksliai atsveriamas 1,0 g žaliavos ir džiovinama 2 val 105 °C temperatūroje iki pastovios masės džiovinimo spintoje. Procedūra kartojama tris kartus kiekvienam mėginiui ir išvedamas vidurkis [19]. Gauti duomenis perskaičiuoti absoliučiai sausos žaliavos masei.

Etanolinių ištraukų paruošimas. Kiekvieno erškėčių vaisių ėminio atsverta po 0,5 g (tikslus svėrinys). Atsverta žaliava dedama į tamsaus stiklo buteliukus ir užpilama 10 ml 40 proc. etanolio. Sandariai uždaryti buteliukai talpinami į ultragarso vonelę ir ekstrahuojami kambario temperatūroje 50 min., esant 80 kHz dažniui ir 1130 W ultragarso vonelės galiai. Ištraukos filtruojamos naudojant vakuuminį filtrą ir supilamos į 10 ml matavimo kolbutę, įpilama 40 proc. etanolio iki žymės. Gautos ištraukos perpilamos į tamsaus stiklo buteliukus, kurie paženklinami ir iki analizės laikomi kambario temperatūros patalpoje.

2.5. Tyrimo metodai

2.5.1. Bendro fenolinių junginių kiekio nustatymas Folin–Ciocalteu metodu

Bendras fenolinių junginių kiekis nustatomas spektrofotometrinio metodu, naudojant darbinį Folin–Ciocalteu reagentą. Darbinis Folin–Ciocalteu reagentas ruošiamas 10 kartų praskiedžiant motininį tirpalą distiliuotu vandeniu. 5 ml motininio Folin–Ciocalteu reagento praskiedžiama distiliuotu vandeniu iki žymės 50 ml matavimo kolboje.

7,5 proc. Na_2CO_3 tirpalo paruošimas: 7,5 g Na_2CO_3 miltelių tirpinama distiliuotame vandenyje 100 ml matavimo kolboje.

Tiriamąjo tirpalo ruošimas: 0,2 ml ekstrakto praskiedžiama 4 ml 40 proc. (v/v) etanoliu. 0,2 ml praskiestos erškėčių vaisių etanolinės ištraukos sumaišome su 5 ml 10 proc. Folin–Ciocalteu reagento ir 4 ml 7,5 proc. Na_2CO_3 tirpalo.

Lyginamojo tirpalo ruošimas: imama 0,2 ml distiliuoto vandens, pilama 5 ml 10 proc. Folin–Ciocalteu reagento ir 4 ml 7,5 proc. Na_2CO_3 tirpalo.

Visi paruošti mėginiai laikomi kabario temperatūroje, tamsoje, 1 val. Po to atliekama analizė spektrofotometru, esant 765 nm šviesos bangos ilgiui, matuojama 10 mm tirpalo sluoksnio absorbcija.

Kalibracinis grafikas sudaromas naudojant 0,015625–0,5 mg/ml koncentracijos etaloninius galo rūgšties tirpalus. Bendras fenolinių junginių kiekis yra išreiškiamas galo rūgšties ekvivalentais (GRE) vienam gramui sausos žaliavos (mg/g) naudojantis galo rūgšties kalibracinės kreivės tiesine regresijos lygtimi:

$$y = 3,4252x - 0,06; R^2 = 0,9993$$

Bendras fenolinių junginių kiekis absoliučiai sausai erškėčių vaisių augalinei žaliavai apskaičiuojamas pagal formulę :

$$C = \frac{x \times V}{m} \text{ (mg GRE/g)}$$

C – bendras fenolinių junginių kiekis (mg/g);

X – galo rūgšties koncentracija, nustatyta pagal kalibravimo grafiką (mg/ml);

V – pagamintos etanolinės ištraukos tūris (ml);

m – sausos žaliavos masė (g).

2.5.2. Bendro hidroksicinamono rūgšties darinių kiekio nustatymas

Tiriamąojo tirpalo ruošimas: 10 ml volumetrinėje kolbutėje skiedžiama 0,1 ml etanolinės ištraukos, 0,9 ml 40 proc. (v/v) etanolio, pridedama 2 ml 0,5 ml HCl, 2 ml Arnou reagento (10 proc. natrio molibdato vandeninis tirpalas ir 10 proc. natrio nitrito vandeninis tirpalas, santykis 1:1), 2 ml 8,5 proc. NaOH. Į mišinį kolbutėje pilame išgrynintą vandenį iki brūkšnio.

Lyginamojo tirpalo ruošimas: 10 ml volumetrinėje kolbutėje imame 0,1 ml etanolinės ištraukos, 0,9 ml 40 proc. (v/v) etanolio, 2 ml 0,5 ml HCl, 2 ml 8,5 proc. NaOH, skiedžiama iki brūkšnio išgrynintuoju vandeniu.

Spektrofotometru išmatuojamas 10 mm tiriamojo tirpalo sluoksnio absorbcijos dydis, esant 525 nm šviesos bangos ilgiui. Kalibravimo grafikas ($y = 0,7959x - 0,0176$; $R^2 = 0,9997$) sudaromas, naudojant 0,0625–1 mg/ml koncentracijos etaloninius chlorogeno rūgšties tirpalus. Bendras hidroksicinamono rūgšties darinių kiekis sausai augalinei žaliai apskaičiuojamas pagal formulę:

$$C = \frac{x \times V}{m} \text{ (mg, CRE/g)}$$

C – bendras hidroksicinamono rūgšties darinių kiekis (mg/g);

X – chlorogeno rūgšties koncentracija, nustatyta iš kalibracinės kreivės (mg/ml);

V – pagamintos ištraukos tūris (ml);

m – sausos žaliavos masė (g).

2.5.3. Bendro flavonoidų kiekio nustatymas

Tiriamąojo tirpalo ruošimas: imama 1 ml tiriamojo ekstrakto, 2 ml 96 proc. (v/v) etanolio, 0,1 ml 30 proc. acto rūgšties tirpalo, 0,3 ml 10 proc. aliuminio chlorido tirpalo ir 1,2 ml išgryninto vandens. Gautas mišinys laikomas kambario temperatūroje, tamsioje vietoje 30 min. Tada įpilama 0,4 ml 5 proc. heksametilentetramino tirpalo.

Lyginamojo tirpalo ruošimas: 1 ml tiriamojo ekstrakto sumaišoma su 2 ml 96 proc. (v/v) etanolio, 0,1 ml 30 proc. acto rūgšties tirpalu ir 1,9 ml išgrynintu vandeniu.

Visų mėginių analizė atliekama spektrofotometru, esant 407 nm šviesos bangos ilgiui, matuojamas 10 nm tirpalo sluoksnio absorbcijos dydis. Kalibracinio grafiko sudarymui naudojamas rutino standartas

[0,0078125–0,25 mg/ml]. Bendras flavonoidų kiekis išreiškiamas rutino ekvivalentais vienam gramui visiškai sausos augalinės žaliavos (mg/g), pagal rutino kalibracinės kreivės tiesinės regrecijos lygtį:

$$y = 4,5167x - 0,0074; R^2 = 0,9999$$

Bendras flavonoidų kiekis išreiškiamas rutino ekvivalentais (RE) gramui sausos augalinės žaliavos ir apskaičiuojamas taikant formulę:

$$C = \frac{x \times V \times a}{m} \text{ (mg RE/g)}$$

C – bendras flavonoidų kiekis (mg/g);

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

V – pagamintos ištraukos tūris (ml);

a – skiedimas;

m – sausos žaliavos masė (g).

2.5.4. Antiradikalinio aktyvumo nustatymas DPPH metodu

Darbinio DPPH tirpalo paruošimas. Atsveriamą 0,0012 g DPPH miltelių ir ištirpinama 50 ml 96 proc. (v/v) etanolyje. Paruošto tirpalo absorbcija matuojama spektrofotometru, esant 517 nm bangos ilgiui, o palyginamasis tirpalas – atitinkamos koncentracijos etanolis. Darbinis DPPH tirpalas skiedžiamas etanoliu, kol pasiekia pasiekia $0,8 \pm 0,03$ absorbcijos vienetų.

Tiriamąjo tirpalo paruošimas. Į 10 µl erškėčių vaisių ekstrakto įpilama 3 ml darbinio DPPH tirpalo.

Paruošti mėginiai laikomi tamsoje 30 min., po to spektrofotometru matuojamas 10 mm tiriamojo tirpalo sluoksnio šviesos absorbcijos dydis, esant 517 nm šviesos bangos ilgiui. Lyginamasis tirpalas – 96 proc. (v/v) etanolis. Kalibracinio grafiko sudarymui naudojamas 1250–20000 µmol/l koncentracijos etaloninius trolokso tirpalus.

Antiradikalinis aktyvumas yra išreiškiamas standartinio antioksidanto trolokso ekvivalentais (TE) gramui žaliavos, remiantis trolokso kalibracinės kreivės tiesinės regresijos lygtimi:

$$y = 0,00003x + 0,0342; R^2 = 0,9994$$

Antioksidacinis aktyvumas absoliučiai sausai erškėčių vaisių žaliavai apskaičiuojamas pagal formulę:

$$C = \frac{x \times V}{m} (\mu\text{mol TE/g})$$

C – antiradikalinis aktyvumas ($\mu\text{mol/g}$);

X – trolokso koncentracija, nustatyta iš kalibracinės kreivės ($\mu\text{mol/ml}$);

V – pagamintos ištraukos tūris (ml);

m – sausos žaliavos masė (g).

2.5.5. Redukcinio aktyvumo tyrimas naudojant FRAP metodą

Darbinio FRAP reagento paruošimas. Ruošiami tirpalai: 300 mmol/l buferinis natrio acetato tirpalas, 10 mmol/l TPTZ tirpalas, 20 mmol/l geležies (III) chlorido heksahidrato tirpalas ir sumaišomi santykiu 10:1:1. Tirpalų gamyba:

1. 300 mmol/l buferinis natrio acetato tirpalas. Atsveriamą 0,775 g natrio acetato, suberiame į 250 ml matavimo kolbą, užpilame 4 ml ledinės acto rūgšties ir skiedžiama išgrynintuoju vandeniu iki žymės.

2. 10 mmol/l TPTZ tirpalas. Atsveriamą 0,0781 g TPTZ miltelių ir tirpiname 25 ml matavimo kolboje 40 mmol/l HCl parūgštintame išgrynintame vandenyje.

3. 20 mmol/l geležies (III) chlorido heksahidrato tirpalas. 0,1352g geležies (III) chlorido heksahidrato ištirpiname išgrynintame vandenyje 25 ml kolbutėje.

Tiriamąjo tirpalo paruošimas. Į 10 μl erškėčių vaisių ištraukos įpilama 3 ml darbinio FRAP tirpalo.

Paruošti bandiniai laikomi tamsoje, kambario temperatūroje 30 min. 10 mm tiriamojo tirpalo sluoksnio absorbcijos dydis matuojamas spektrofotometru, esant 593 nm šviesos bangos ilgiui. Lyginamasis tirpalas – darbinis FRAP tirpalas. Kalibracinio grafiko sudarytas naudojant 187,5–3000 $\mu\text{mol/l}$ koncentracijos etaloninius trolokso tirpalus.

Antioksidacinis aktyvumas yra išreiškiamas standartinio antioksidanto trolokso ekvivalentais (TE) gramui žaliavos, remiantis trolokso kalibracinės kreivės tiesinės regresijos lygtimi:

$$y = 0,0003x + 0,0331; R^2 = 0,9945;$$

Redukcinis aktyvumas absoliučiai sausai erškėčių vaisių žaliavai apskaičiuojamas pagal formulę:

$$C = \frac{x \times V \times a}{m} (\mu\text{mol TE/g})$$

C – redukcinis aktyvumas ($\mu\text{mol/g}$);

X – trolokso koncentracija, nustatyta iš kalibracinės kreivės ($\mu\text{mol/ml}$);

V – pagamintos ištraukos tūris (ml);

a – skiedimas;

m – sausos žaliavos masė (g).

2.5.6. Ultra–efektyviosios skysčių chromatografijos metodika

Erškėčių vaisių ėminių etanolinių ekstraktų fenolinių junginių kokybinė ir kiekybinė analizė atlikta, taikant González-Burgos ir kt. paskelbtą validuotą ultra–efektyviosios skysčių chromatografijos metodiką [17]. Naudotas „Waters Asquity H-Class“ (Milfordas, MA, JAV) skysčių chromatografas su „Waters Xevo TQD“ masių spektrometru (Milfordas, MA, JAV). Chromatografinis skirstymas atliktas naudojant „YMC Triart C18“ kolonėlę ($1,9 \mu\text{m } 100 \times 2,0 \text{ mm}$) su prieškolonėle, palaikoma pastovi 40°C temperatūra. Judri fazė sudaryta iš eliuento A (0,1 proc. vandeninis skruzdžių rūgšties tirpalas) ir eliuento B (acetonitrilas). Gradiento kitimas: 0–1 min. 95 proc. eliuento A ir 5 proc. eliuento B, 1–5 min. 95-70 proc. eliuento A, 7 min. 70-50 proc. eliuento A, 7,5–8 min. 0 proc. eliuento A, 8,1 min. grąžinama į pradinės sąlygas. Bendra trukmė – 10 min, tėkmės greitis – $0,5 \text{ ml/min}$, injekcijos tūris – $1 \mu\text{l}$. Fenoliniai junginiai identifikuoti pagal analitės bei etaloninio junginio sulaikymo trukmę ir masių spektrus, gautus masių spektrometriniu detektoriumi. Kiekybinis analičių įvertinimas atliktas išanalizavus analičių smailių priklausomybę nuo analičių koncentracijos tiriamuosiuose tirpaluose. Masių spektrometro parametrai pateikti 1 lentelėje.

1 lentelė. Masių spektrometro parametrai fenolinių junginių analizei

Junginys	Tėvinis jonas (m/z)	Dukterinis jonas (m/z)	Kūgio įtampa, V	Ardymo kameros energija, eV
Kavos rūgštis	179	107	36	22
(-)-Epikatechinas	289	123	60	34
(+)-Katechinas	289	123	60	34
Kvercetas	301	151	48	20
Chlorogeno rūgštis	353	191	32	14
Floridinas	435	273	42	14
(-)-Epikatechino galatas	441	169	40	16
Kemferol-3-O-gliukozidas	447	284	54	28
Kvercitrinas	447	300	50	26
Rutinas	609	300	70	38

2.6. Statistinis duomenų įvertinimas

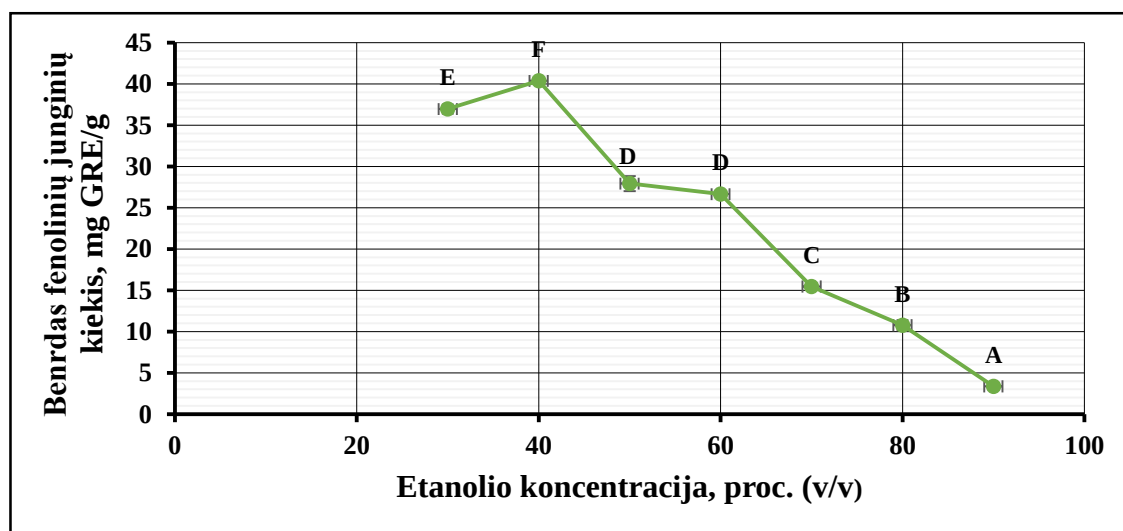
Gauti duomenys įvertinami naudojant „Microsoft Excel 2016“ („Microsoft“, JAV) ir „SPSS Statistics 21“ („IBM“, JAV) kompiuterines programas. Apskaičiuoti trijų pakartojimų aritmetiniai vidurkiai ir standartiniai nuokrypiai. Statistiškai reikšmingas skirtumas nustatytas, jei $p < 0,05$. Duomenų koreliacija vertinama taikant Pirsono koreliacijos koeficientą. Rezultatų statistinis patikimumas vertinamas taikant vienfaktorinę dispersinę analizę (ANOVA). Daugkartinio palyginimo Tjūkio kriterijus taikytas vertinant statistiškai reikšmingų vidurkių skirtumus.

3. REZULTATAI IR JŲ APITARIMAS

3.1. Erškėčių vaisių ėminių fenolinių junginių ekstrakcijos sąlygų nustatymas

Ekstrakcijos sąlygų parinkimas yra labai svarbus, siekiant gauti didžiausią fenolinių junginių išeigą iš vaistinės augalinės žaliavos. Erškėčių vaisių ėminių fenolinių junginių ekstrakcijos sąlygos optimizuotos parenkant tinkamą etanolio koncentraciją, ekstrakcijos trukmę ir ultragarso vonelės galią.

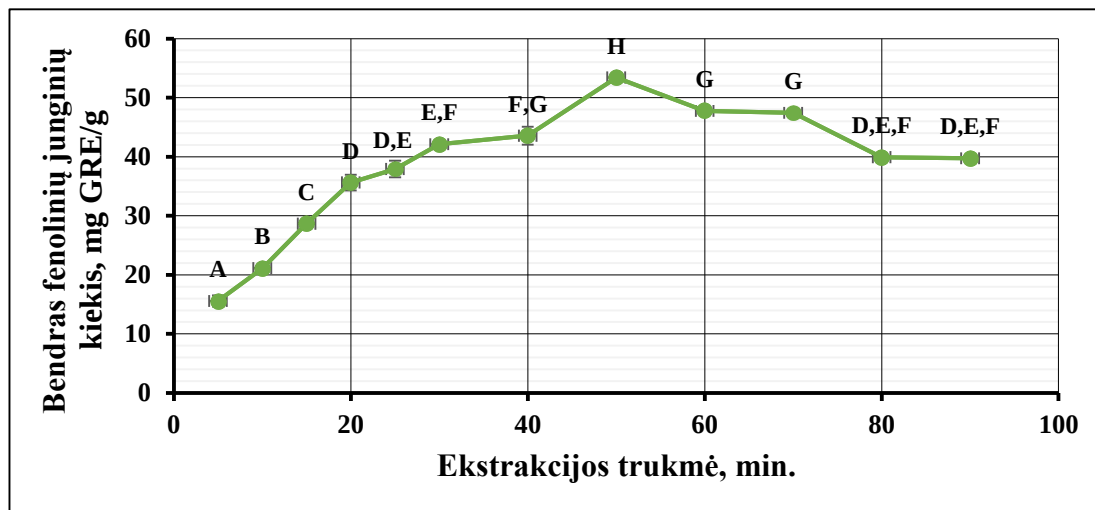
Tirpiklio koncentracijos parinkimas. Siekiant nustatyti tinkamiausios koncentracijos tirpiklį naudotas 30-90 proc. etanolis (v/v) (1 pav.).



1 pav. Erškėčių vaisių ėminių bendro fenolinių junginių kiekio įvairavimas, ekstrakcijai naudojant skirtingų koncentracijų etanolį; skirtingos raidės rodo statistiškai reikšmingus ($p < 0,05$) skirtumus tarp ėminių

Erškėčių vaisių ėminiai ekstrahuoti įvairios koncentracijos (30-90 proc.) etanolio, ekstrakcijos trukmė 30 min, 1130 W ultragarso vonelės galia., dažnis – 80 kHz, kambario temperatūroje. Tyrimų rezultatų duomenimis, didžiausias bendras fenolinių junginių kiekis ($40,36 \pm 0,28$ mg GRE/g, $p < 0,05$) nustatytas ekstrakcijai naudojant 40 proc. (v/v) etanolį. Mažiausia fenolinių junginių išeiga ($3,36 \pm 0,32$ mg GRE/g, $p < 0,05$) nustatyta naudojant 90 proc. (v/v) etanolį. Atsižvelgiant į atliktų tyrimų duomenis, tolesniems tyrimams atlikti pasirenkamas 40 proc. (v/v) etanolis).

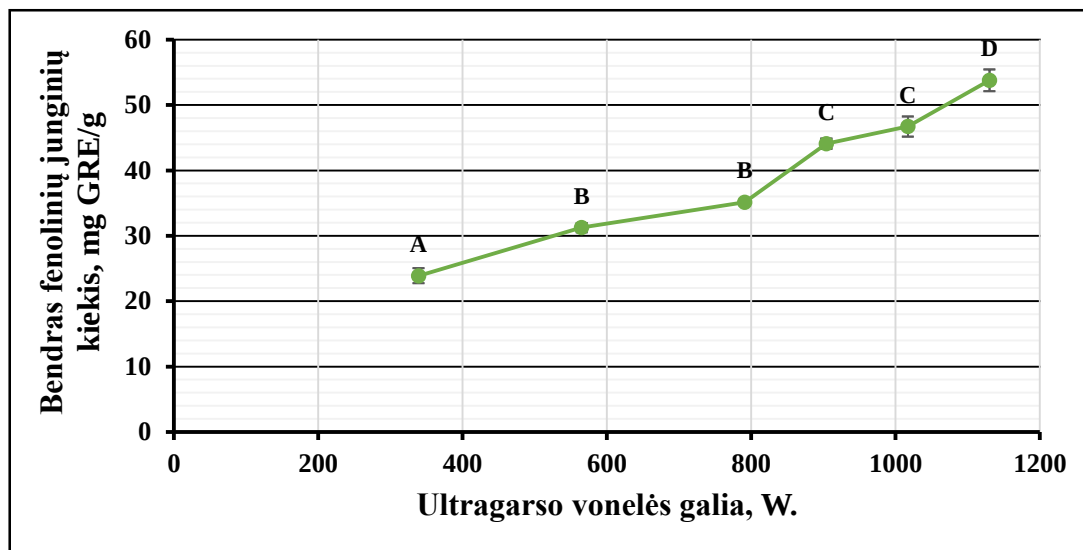
Ekstrakcijos trukmės nustatymas. Erškėčių vaisių ėminiai ultragarso vonelėje buvo ekstrahuojami skirtingais laiko intervalais: 5–90 min. (2 pav.).



2 pav. Erškėčių vaisių ėminių bendro fenolinių junginių kiekio įvairavimas, ekstrahuojant skirtingais laiko intervalais; skirtingos raidės rodo statistiškai reikšmingus ($p < 0,05$) skirtumus tarp ėminių

Ekstrakcijai naudojamas 40 proc. etanolis, esant 1130 W ultragarso vonelės galiai ir 80 kHz dažniui, kambario temperatūroje. Didžiausias bendras fenolinių junginių kiekis ($53,41 \pm 0,42$ mg GRE/g, $p < 0,05$) nustatytas ekstrahuojant erškėčių vaisių ėminus 50 min. Mažiausias bendras fenolinių junginių kiekis ($15,57 \pm 0,93$ mg GRE/g, $p < 0,05$) nustatytas ekstrahuojant ultragarso vonelėje 5 min. Tolimesni tyrimai atliekami erškėčių vaisių ėminus ekstrahuojant 40 proc. etanoliu, 50 min. ultragarso vonelėje, esant 80 kHz dažniui, kambario temperatūroje.

Ultragarso vonelės galios nustatymas. Ekstrakcijos sąlygų nustatymui pasirenkama skirtinga ultragarso vonelės galia: 339–1130 W (3 pav.).



3 pav. Erškėčių vaisių ėminių bendro fenolinių junginių kiekio įvairavimas, ekstrakcijai naudojant skirtingą ultragarso vonelės galią; skirtingos raidės rodo statistiškai reikšmingus ($p < 0,05$) skirtumus tarp ėminių

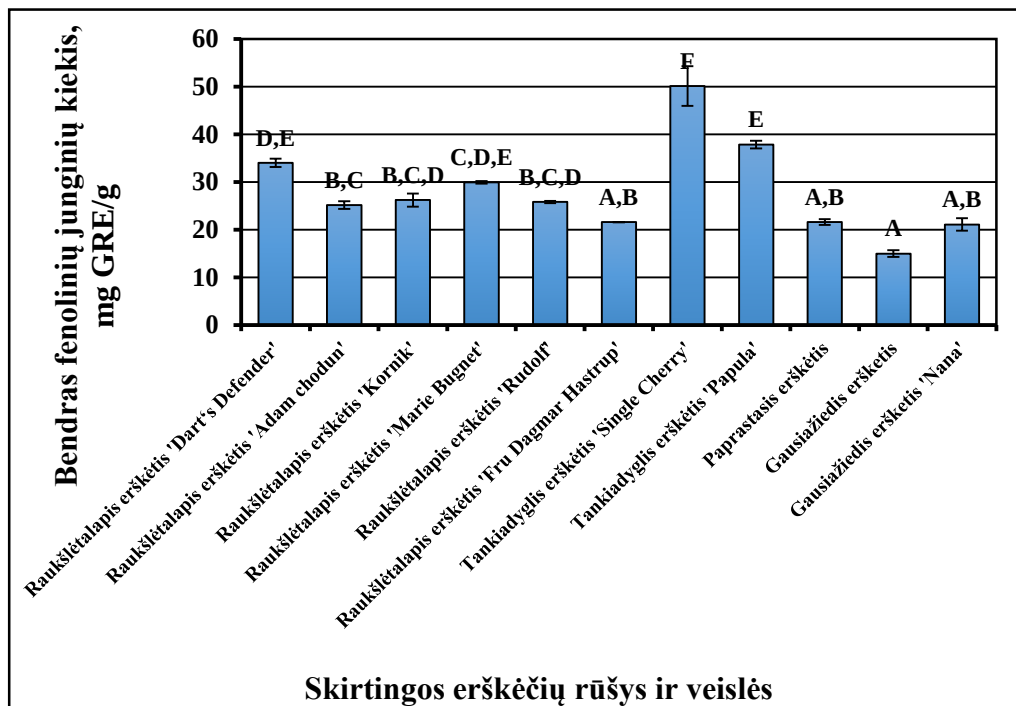
Tyrime naudojamas 40 proc. etanolis (v/v), ekstrahuojama 50 min., esant 80 kHz ultragarso vonelės stipriui, kambario temperatūroje. Didžiausias bendras fenolinių junginių kiekis ($54,79 \pm 1,67$ mg GRE/g, $p < 0,05$) nustatytas, kai ultragarso vonelės galia yra 1130 W. Mažiausias bendras fenolinių junginių kiekis ($23,9 \pm 1,13$ mg GRE/g, $p < 0,05$) nustatytas esant 339 W ultragarso vonelės galiai.

Remdamiesi gautais tyrimų rezultatais, didžiausias bendras fenolinių junginių kiekis erškėčių vaisių ėminiuose nustatytas naudojant 40 proc. etanolį (v/v), ekstrahuojant 50 min. ir esant 1130 W ultragarso vonelės galiai. Nustatytos ekstrakcijos sąlygos naudojamos tolesniems erškėčių vaisių ėminiuose esančių fenolinių junginių analizės tyrimams.

3.2. Bendro fenolinių junginių kiekio nustatymas erškėčių vaisių ėminiuose

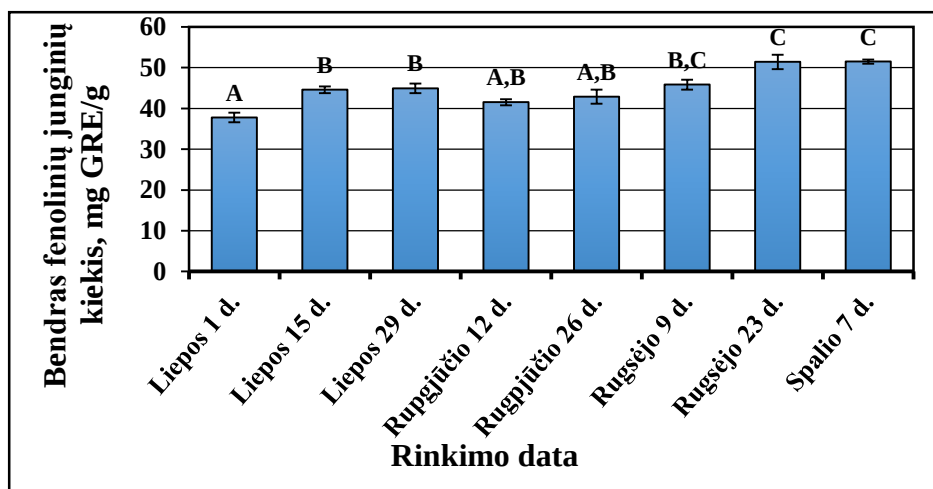
Atliekant tyrimus su skirtingomis erškėčių vaisių ištraukų rūšimis ir veislėmis nustatyta, kad bendras fenolinių junginių kiekis erškėčių vaisių ėminiuose varijuoja nuo $14,99 \pm 0,68$ mg GRE/g iki $50,13 \pm 4,17$ mg GRE/g (4 pav.). Apskaičiuota, kad vidutinis bendras fenolinių junginių kiekis erškėčių vaisių ėminiuose yra $28,03 \pm 2,05$ mg GRE/g. Didžiausias fenolinių junginių kiekis nustatytas tankiadyglių erškėčių 'Single Cherry' vaisių ėminiuose ($50,13 \pm 4,17$ mg GRE/g, $p < 0,05$). Mažiausias fenolinių junginių kiekis nustatyti gausiažiedžių erškėčių ($14,99 \pm 0,68$ mg GRE/g), gausiažiedžių erškėčių 'Nana' ($21,09 \pm 1,31$

mg GRE/g), raukšlėtalapių erškėčių 'Fran Dagmar Hastrup' ($21,57 \pm 0,02$ mg GRE/g) ir paprastųjų erškėčių ($21,61 \pm 0,6$ mg GRE/g) vaisių ėminiuose. Šių erškėčių, skirtingų rūšių ir veislių, vaisių ėminiuose nustatyti fenolinių junginių kiekiai statistiškai reikšmingai nesiskyrė ($p > 0,05$).



4 pav. Bendro fenolinių junginių kiekio įvairavimas erškėčių vaisių ėminiuose; skirtingos raidės rodo statistiškai reikšmingus ($p < 0,05$) skirtumus tarp ėminių

Bendras fenolinių junginių kiekis paprastųjų erškėčių vaisių ėminiuose brandimo metu varijuoja nuo $37,76 \pm 1,19$ mg GRE/g iki $51,49 \pm 0,52$ mg GRE/g (5 pav.).



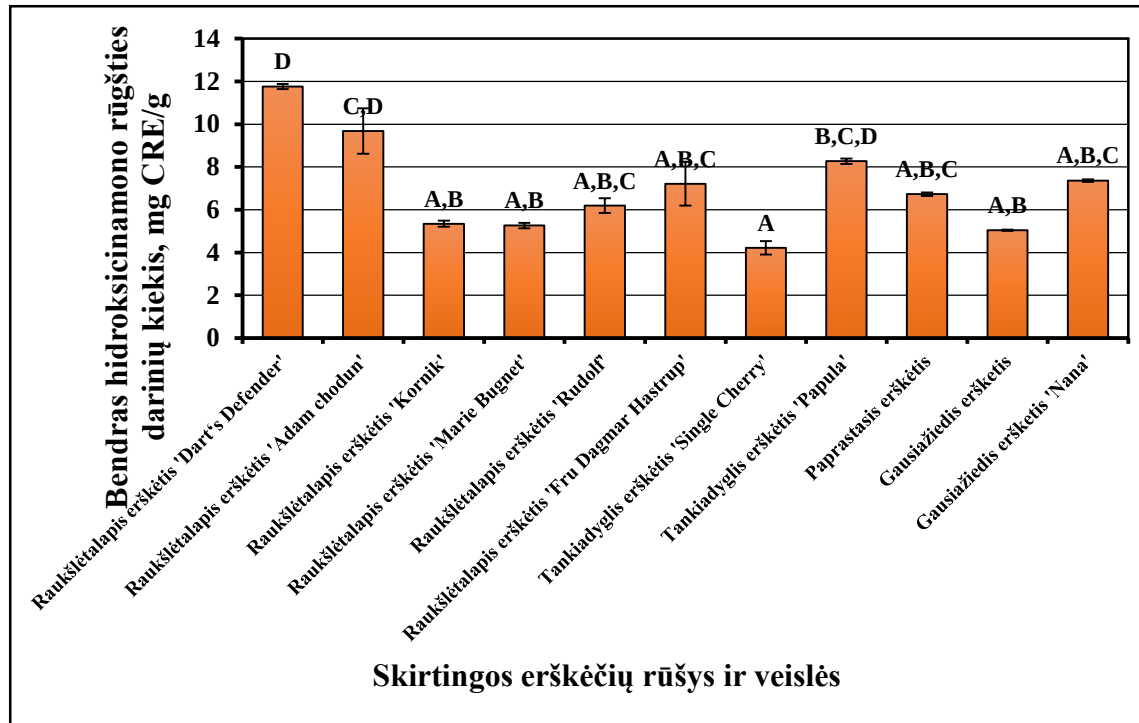
5 pav. Bendro fenolinių junginių kiekio įvairavimas paprastųjų erškėčių vaisių ėminiuose brandimo metu 2019 m.; skirtingos raidės rodo statistiškai reikšmingus ($p < 0,05$) skirtumus tarp ėminių

Didžiausias fenolinių junginių kiekis paprastųjų erškėčių vaisių ėminiuose nustatytas spalio 7 dieną ($51,49 \pm 0,52$ mg GRE/g), rugsėjo 23 dieną ($51,4 \pm 1,72$ mg GRE/g) ir rugsėjo 9 dieną ($45,84 \pm 1,22$ mg GRE/g). Mažiausias fenolinių junginių kiekis nustatytas liepos 1 dieną ($37,76 \pm 1,19$ mg GRE/g), rugpjūčio 12 dieną ($41,52 \pm 0,76$ mg GRE/g) ir rugpjūčio 26 dieną ($42,87 \pm 1,7$ mg GRE/g) vaisių ėminiuose.

Tyrimo duomenimis, bendras fenolinių junginių kiekis įvairių erškėčių rūšių ir veislių vaisių ėminiuose $4,99$ – $50,13$ mg GRE/g, o brandimo metu rinktų paprastųjų erškėčių vaisių ėminiuose $37,76$ – $51,49$ mg GRE/g. Panašūs rezultatai gauti Ersoy ir kt. (2015), ištyrus paprastųjų erškėčių vaisių ėminius. Šių mokslininkų nustatytas bendras fenolinių junginių kiekis įvairavo nuo $20,12$ mg GRE/g iki $32,2$ mg GRE/g. Taneva ir kiti mokslininkai (2016) erškėčių vaisių ėminiuose nustatė fenolinių junginių kiekį $55,4$ – $69,4$ mg GRE/g [12, 39]. Kituose moksliniuose straipsniuose nurodomas didesnis tirtų erškėčių vaisių ėminių bendras fenolinių junginių kiekis už mūsų nustatytąjį. Baros ir kt. (2011) atliktame tyrime nustatyta, kad bendras fenolinių junginių kiekis paprastųjų erškėčių vaisių ėminiuose varijuoja nuo $104,73$ mg GRE/g iki $149,35$ mg GRE/g [7]. Mūsų tyrimo ir literatūroje pateiktų duomenų skirtumus galėjo lemti augalo rūšis, geografinė padėtis, klimato sąlygos, vaisių brandimo laikotarpis ir skirtingi ekstrahavimo metodai [11].

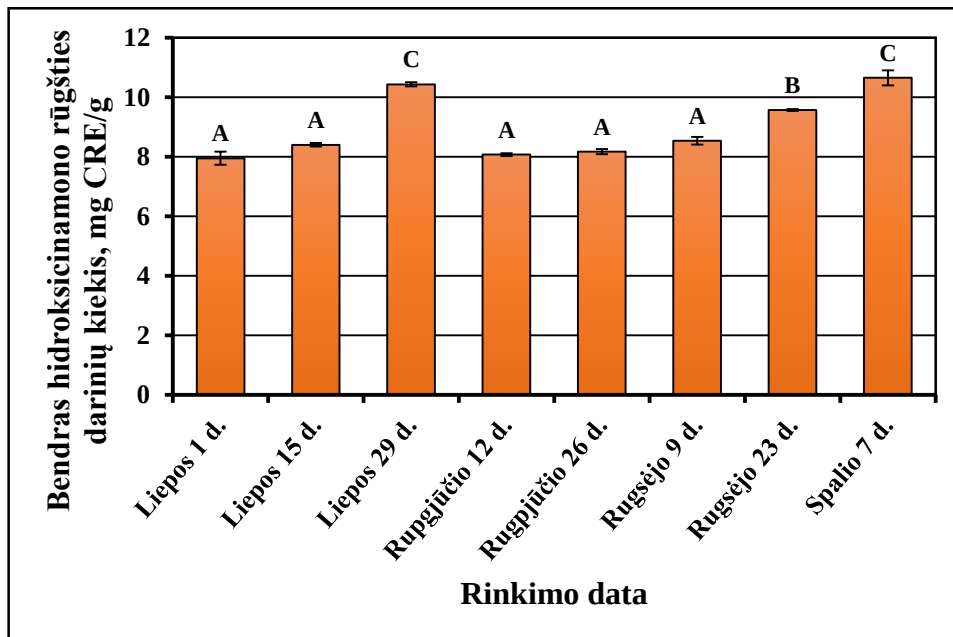
3.3. Bendro hidroksicinamono rūgšties darinių kiekio nustatymas erškėčių vaisių ėminiuose

Ištyrus skirtingų rūšių ir veislių erškėčių vaisių ėminius nustatyta, kad hidroksicinamono rūgšties darinių kiekis juose varijuoja nuo $4,22 \pm 0,31$ mg CRE/g iki $11,76 \pm 0,12$ mg CRE/g (6 pav.). Vidutinis bendras hidroksicinamono rūgšties darinių kiekis erškėčių vaisių ėminiuose yra $7,01 \pm 0,49$ mg CRE/g. Didžiausias hidroksicinamono rūgšties darinių kiekis nustatytas raukšlėtapių erškėčių 'Dart's defender' ($11,76 \pm 0,12$ mg CRE/g) ir raukšlėtapių erškėčių 'Adam chodun' ($9,68 \pm 1,96$ mg CRE/g) vaisių ėminiuose. Mažiausias hidroksicinamono rūgšties darinių kiekis nustatytas tankiadyglių erškėčių 'Single Cherry' ($4,22 \pm 0,31$ mg CRE/g), gausiažiedžių erškėčių ($5,04 \pm 0,03$ mg CRE/g), raukšlėtapių erškėčių 'Marie Bugnet' ($5,26 \pm 0,13$ mg CRE/g), ir raukšlėtapių erškėčių 'Kornik' ($5,34 \pm 0,14$ mg CRE/g) vaisių ėminiuose.



6 pav. Bendro hidroksicinamono rūgšties darinių kiekio įvairavimas erškėčių vaisių ėminiuose; skirtingos raidės rodo statistiškai reikšmingus ($p < 0,05$) skirtumus tarp ėminių

Bendras hidroksicinamono rūgšties darinių kiekis brandimo metu paprastųjų erškėčių vaisių ėminiuose varijuoja nuo $7,55 \pm 0,21$ mg CRE/g iki $10,65 \pm 0,25$ mg CRE/g (7 pav.).

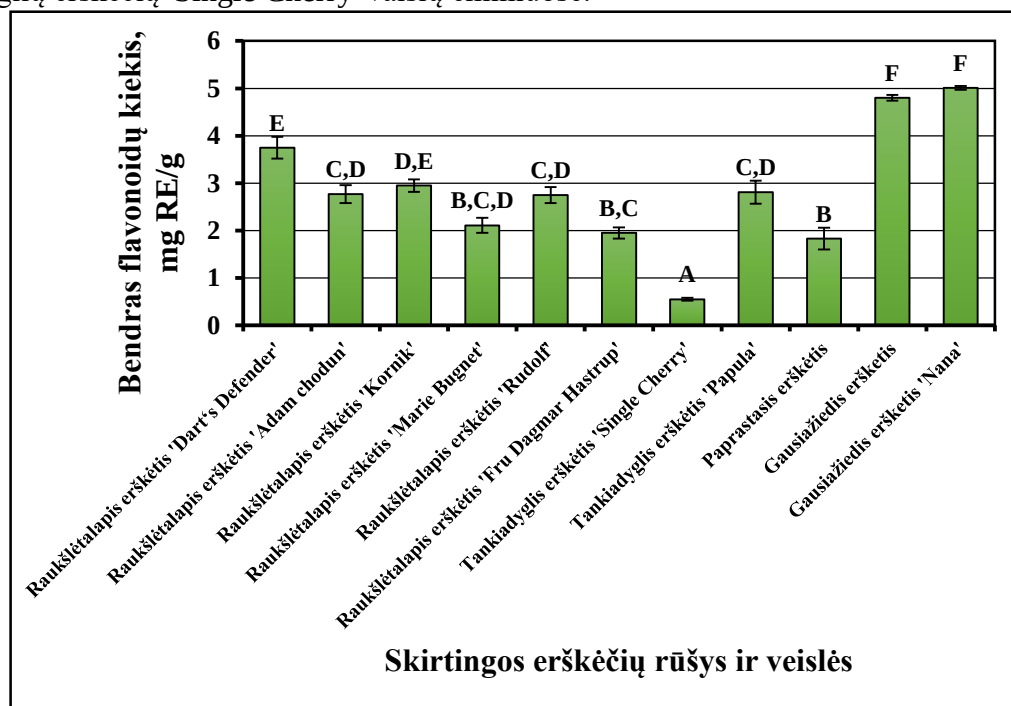


7 pav. Bendro hidroksicinamono rūgšties darinių kiekio įvairavimas paprastųjų erškėčių vaisių ėminiuose brandimo metu 2019 m.; skirtingos raidės rodo statistiškai reikšmingus ($p < 0,05$) skirtumus tarp ėminių

Didžiausias hidroksicinamono rūgšties darinių kiekis paprastųjų erškėčių vaisių ėminiuose nustatytas spalio 7 dieną ($10,65 \pm 0,25$ mg CRE/g) ir liepos 29 dieną ($10,43 \pm 0,07$ mg CRE/g). Mažiausias hidroksicinamono rūgšties darinių kiekis nustatytas liepos 1 dieną ($7,95 \pm 0,22$ mg CRE/g), rugpjūčio 12 dieną ($8,07 \pm 0,05$ mg CRE/g), rugpjūčio 26 dieną ($8,17 \pm 0,09$ mg CRE/g), liepos 15 dieną ($8,4 \pm 0,06$ mg CRE/g) ir rugsėjo 9 dieną ($8,54 \pm 0,13$ mg CRE/g) rinktų paprastųjų erškėčių vaisių ėminiuose, gauti rezultatai tarpusavyje statistiškai reikšmingai nesiskyrė ($p < 0,05$).

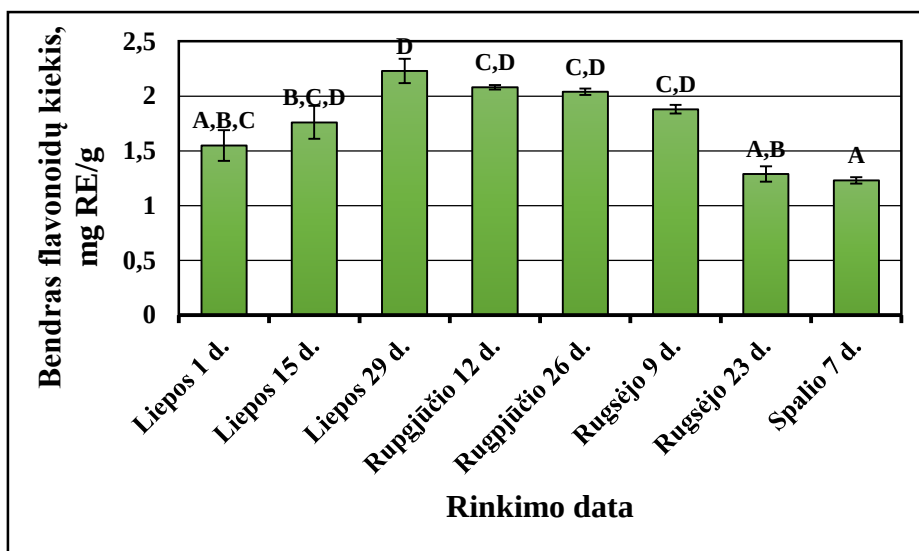
3.4. Bendro flavonoidų kiekio nustatymas erškėčių vaisių ėminiuose

Tyrimų metu nustatyta, kad skirtingose erškėčių rūšių ir veislių vaisių ėminiuose bendras flavonoidų kiekis varijuoja nuo $0,55 \pm 0,03$ mg RE/g iki $5,01 \pm 0,01$ mg RE/g (8 pav.). Nustatytas vidutinis flavonoidų kiekis erškėčių vaisių ėminiuose yra $2,84 \pm 0,27$ mg RE/g. Didžiausias bendras flavonoidų kiekis nustatytas gausiažiedžių erškėčių 'Nana' ($5,01 \pm 0,01$ mg RE/g) ir gausiažiedžių erškėčių ($4,8 \pm 0,06$ mg RE/g) vaisių ėminiuose. Mažiausias bendras flavonoidų kiekis ($0,55 \pm 0,03$ mg RE/g, $p < 0,05$) nustatytas tankiadyglių erškėčių 'Single Cherry' vaisių ėminiuose.



8 pav. Bendro flavonoidų kiekio įvairavimas erškėčių vaisių ėminiuose; skirtingos raidės rodo statistiškai reikšmingus ($p < 0,05$) skirtumus tarp ėminių

Vaisių brandimo stadijos metu paprastųjų erškėčių vaisių ėminiuose bendras flavonoidų kiekis varijuoja nuo $1,23 \pm 0,03$ mg RE/g iki $2,23 \pm 0,11$ mg RE/g (9 pav.).



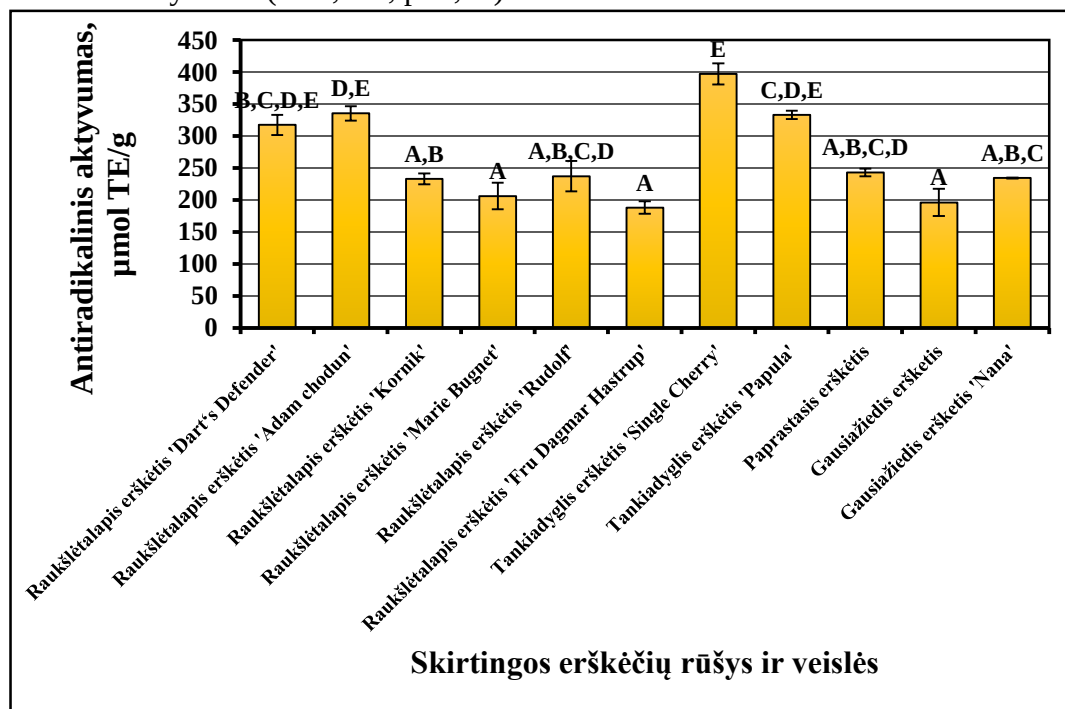
9 pav. Bendro flavonoidų kiekio įvairavimas paprastųjų erškėčių vaisių ėminiuose brandimo metu 2019 m.; skirtingos raidės rodo statistiškai reikšmingus ($p < 0,05$) skirtumus tarp ėminių

Didžiausias bendras flavonoidų kiekis nustatytas liepos 29 dieną ($2,23 \pm 0,11$ mg RE/g), rugpjūčio 26 dieną ($2,04 \pm 0,03$ mg RE/g), rugpjūčio 12 dieną ($2,08 \pm 0,02$ mg RE/g), ir rugsėjo 9 dieną ($1,88 \pm 0,04$ mg RE/g) rinktų paprastųjų erškėčių vaisių ėminiuose. Mažiausias bendras flavonoidų kiekis paprastųjų erškėčių vaisių ėminiuose nustatytas spalio 7 dieną ($1,23 \pm 0,03$ mg RE/g) ir rugsėjo 23 dieną ($1,29 \pm 0,07$ mg RE/g). Šiomis dienomis surinktų paprastųjų erškėčių vaisių ėminiuose nustatytas bendras flavonoidų kiekis statistiškai reikšmingai nesiskyrė ($p > 0,05$).

Tyrimų metu nustatyta, kad skirtingose erškėčių rūšių ir veislių vaisių ėminiuose bendras flavonoidų kiekis 0,55–5,01 mg RE/g, o brandimo metu rinktų paprastųjų erškėčių vaisių ėminiuose 1,23–2,23 mg RE/g. Panašūs rezultatai pateikiami ir mokslinės literatūros straipsniuose. Mokslininkų tyrimų metu buvo tirti paprastųjų erškėčių ir šliaužiančiųjų erškėčių vaisių ėminiai, nustatytas bendras flavonoidų kiekis varijavo nuo 0,63 iki 1,48 mg RE/g [30]. Tahirovic ir kt. (2017) paprastųjų erškėčių vaisių ėminiuose nustatė bendrą flavonoidų kiekį, kuris įvairavo nuo 0,214 iki 0,675 mg RE/g [38].

3.5. Erškėčių vaisių ėminių ištraukų antiradikalinio aktyvumo *in vitro* nustatymas

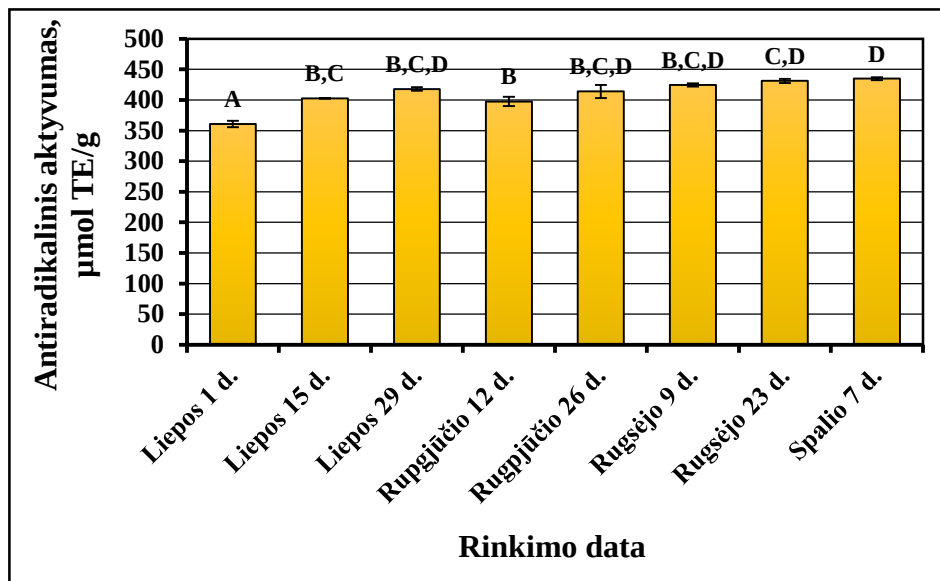
Ištyrus skirtingų rūšių ir veislių erškėčių vaisių ėminių ištraukas, taikant DPPH metodą, nustatyta, kad antiradikalinis aktyvumas varijuoja nuo $188,39 \pm 9,61 \mu\text{mol TE/g}$ iki $397,2 \pm 16,59 \mu\text{mol TE/g}$ (10 pav.). Erškėčių vaisių ėminių ištraukose nustatytas vidutinis antiradikalinis aktyvumas yra $265,68 \pm 11,8 \mu\text{mol TE/g}$. Stipriausias antiradikalinis aktyvumas nustatytas ištyrus tankiadyglių erškėčių 'Single Cherry' ($397,2 \pm 16,59 \mu\text{mol TE/g}$) ir raukšlėtalapio erškėčių 'Adam chodun' ($335,53 \pm 11,13 \mu\text{mol TE/g}$) vaisių ėminių ištraukas. Silpniausias antiradikalinis aktyvumas nustatytas ištyrus raukšlėtalapio erškėčių 'Fru Dagmar Hastrup' ($188,39 \pm 9,61 \mu\text{mol TE/g}$), gausiažiedžių erškėčių ($196,39 \pm 21,1 \mu\text{mol TE/g}$), raukšlėtalapio erškėčių 'Marie bugnet' ($206,22 \pm 20,71 \mu\text{mol TE/g}$) ir raukšlėtalapio erškėčių 'Kornik' ($233,18 \pm 8,59 \mu\text{mol TE/g}$) vaisių ėminių ištraukas. Šių erškėčių, skirtingų rūšių ir veislių, tirtose vaisių ėminių ištraukose nustatytas antiradikalinis aktyvumas statistiškai reikšmingai nesiskyrė ($p > 0,05$). Statistiškai išanalizavus duomenis nustatyta, kad yra stipri koreliacija tarp bendro fenolinių junginių kiekio ir antiradikalinio aktyvumo ($R = 0,767$, $p < 0,05$).



10 pav. Erškėčių vaisių ėminių ištraukų antiradikalinio aktyvumo *in vitro* įvairavimas; skirtingos raidės rodo statistiškai reikšmingus ($p < 0,05$) skirtumus tarp ėminių

Ištyrus paprastųjų erškėčių vaisių ėminių ištraukas brendimo metu nustatyta, kad antiradikalinis aktyvumas varijuoja nuo $360,75 \pm 5,37 \mu\text{mol TE/g}$ iki $434,85 \pm 2,48 \mu\text{mol TE/g}$ (11 pav.). Stipriausias antiradikalinis aktyvumas nustatytas spalio 7 dieną ($434,85 \pm 2,48 \mu\text{mol TE/g}$) ir rugsėjo 23 dieną

(431,22±3,34 $\mu\text{mol TE/g}$). Silpniausias (360,75±5,37 $\mu\text{mol TE/g}$, $p<0,05$) antiradikalinis aktyvumas nustatytas liepos 1 dieną. Statistiškai išanalizavus duomenis nustatyta, kad yra stipri koreliacija tarp bendro fenolinių junginių kiekio ir antiradikalinio aktyvumo ($R=0,891$, $p<0,05$).



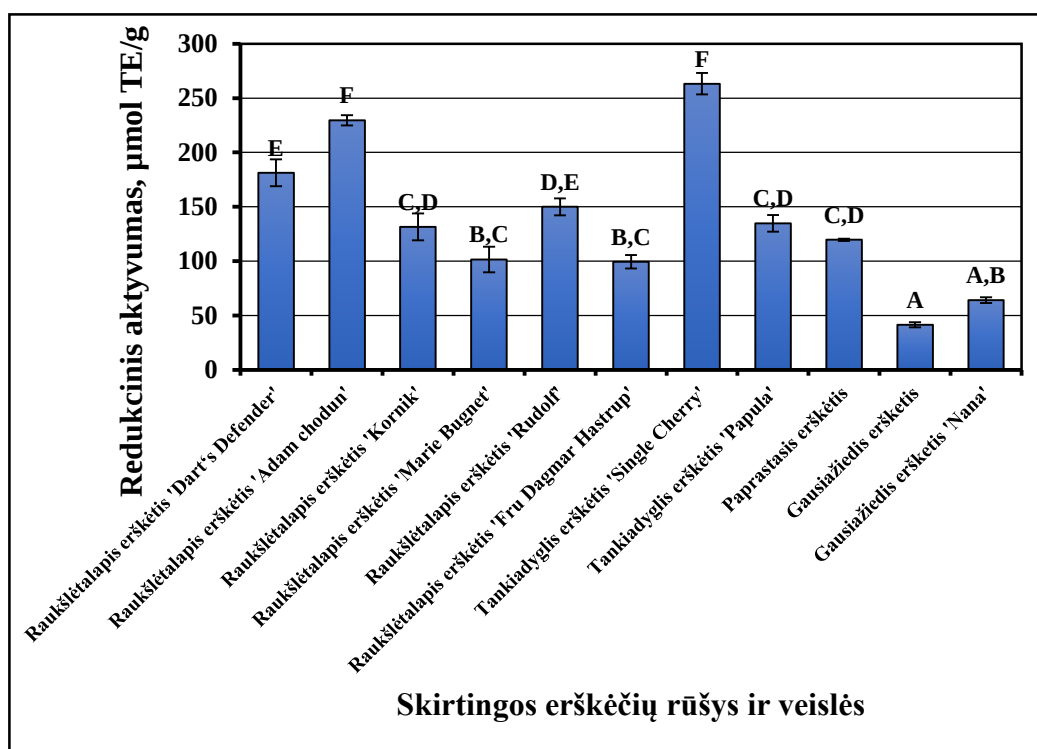
11 pav. Paprastųjų erškėčių vaisių ėminių ištraukų antiradikalinio aktyvumo *in vitro* įvairavimas brandimo metu 2019 m.; skirtingos raidės rodo statistiškai reikšmingus ($p<0,05$) skirtumus tarp ėminių

Atlikto tyrimo metu nustatyta, kad tirtose skirtingų rūšių ir veislių erškėčių vaisių ėminių ištraukose antiradikalinis aktyvumas varijuoja nuo 188,39 $\mu\text{mol TE/g}$ iki 397,2 $\mu\text{mol TE/g}$, o brandimo metu rinktų paprastųjų erškėčių vaisių ėminių ištraukose nuo 360,75 $\mu\text{mol TE/g}$ iki 434,85 $\mu\text{mol TE/g}$. Moksliniuose straipsniuose nuorodomas tirtas erškėčių vaisių ištraukų antiradikalinis aktyvumas: Tahirovic ir kt. (2017) 255,62–407,82 $\mu\text{mol TE/g}$, Roman ir kt. (2013) 63,35–127,8 $\mu\text{mol TE/g}$, Taneva ir kt. (2016) 211,5–286,4 $\mu\text{mol TE/g}$ [33, 38, 39].

3.6. Erškėčių vaisių ėminių ištraukų redukcinio aktyvumo *in vitro* nustatymas

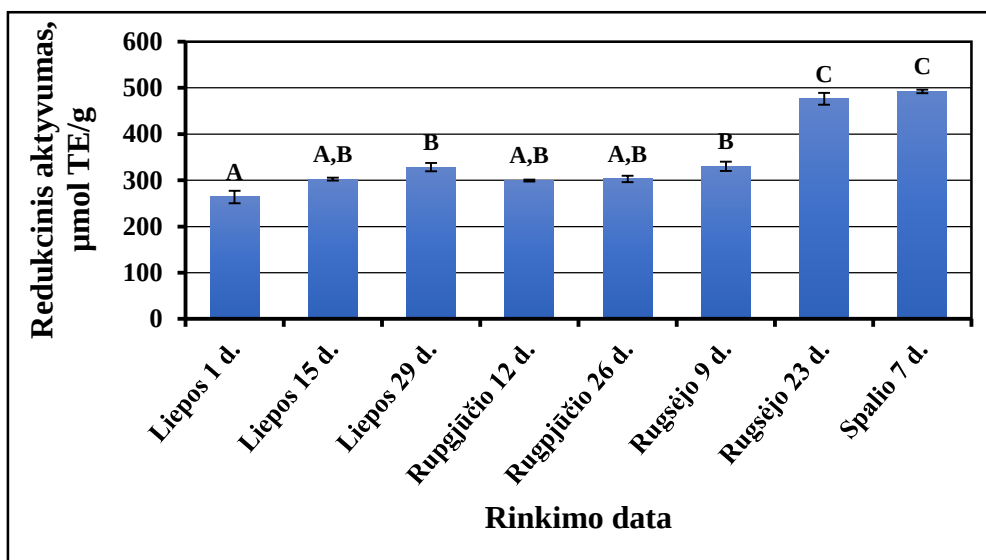
Tiriant skirtingų rūšių ir veislių erškėčių vaisių ėminių ištraukas, naudojant FRAP metodą, nustatyta, kad redukcinis aktyvumas varijuoja nuo 41,47±2,3 $\mu\text{mol TE/g}$ iki 263,15±9,83 $\mu\text{mol TE/g}$ (12 pav.). Tyrimo rezultatais apskaičiuotas vidutinis redukcinis aktyvumas yra 137,81±13,92 $\mu\text{mol TE/g}$. Stipriausias redukcinis aktyvumas nustatytas ištyrus tankiadyglių erškėčių 'Single Cherry' (263,15±9,83

$\mu\text{mol TE/g}$) ir raukšlėtalapų erškėčių 'Adam chodun' ($229,56 \pm 4,74 \mu\text{mol TE/g}$) vaisių ėminių ištraukas. Silpniausias redukcinis aktyvumas nustatytas ištyrus gausiažiedžių erškėčių ($41,47 \pm 2,3 \mu\text{mol TE/g}$) ir gausiažiedžių erškėčių 'Nana' ($64,01 \pm 2,66 \mu\text{mol TE/g}$) vaisių ėminių ištraukas. Vertinant gautus rezultatus nustatyta, kad yra stipri koreliacija tarp bendro fenolinių junginių kiekio ir redukcinio aktyvumo ($R=0,727$, $p<0,05$).



12 pav. Erškėčių vaisių ėminių ištraukų redukcinio aktyvumo *in vitro* įvairavimas; skirtingos raidės rodo statistiškai reikšmingus ($p<0,05$) skirtumus tarp ėminių

Redukcinis aktyvumas paprastųjų erškėčių vaisių ėminių ištraukose brandimo metu varijuoja nuo $263,83 \pm 13,48 \mu\text{mol TE/g}$ iki $491,95 \pm 3,86 \mu\text{mol TE/g}$ (13 pav.). Nustatytas vidutinis redukcinis aktyvumas yra $394,43 \pm 20,82 \mu\text{mol TE/g}$. Stipriausias redukcinis aktyvumas nustatytas spalio 7 dieną ($491,95 \pm 3,86 \mu\text{mol TE/g}$) ir rusėjo 23 dieną ($476,33 \pm 12,7 \mu\text{mol TE/g}$). Silpniausias redukcinis aktyvumas nustatytas liepos 1 dieną ($263,83 \pm 13,48 \mu\text{mol TE/g}$), rugpjūčio 12 dieną ($299,52 \pm 2,1 \mu\text{mol TE/g}$), liepos 15 dieną ($302,39 \pm 3,35 \mu\text{mol TE/g}$) ir rugpjūčio 26 dieną ($303,1 \pm 6,96 \mu\text{mol TE/g}$). Šiomis datomis rinktų paprastųjų erškėčių vaisių ėminių ištraukose nustatytas redukcinis aktyvumas statistiškai reikšmingai nesiskyrė ($p>0,05$). Vertinant gautus rezultatus nustatyta, kad yra labai stipri koreliacija tarp bendro fenolinių junginių skaičiaus ir redukcinio aktyvumo ($R=0,92$, $p<0,05$).

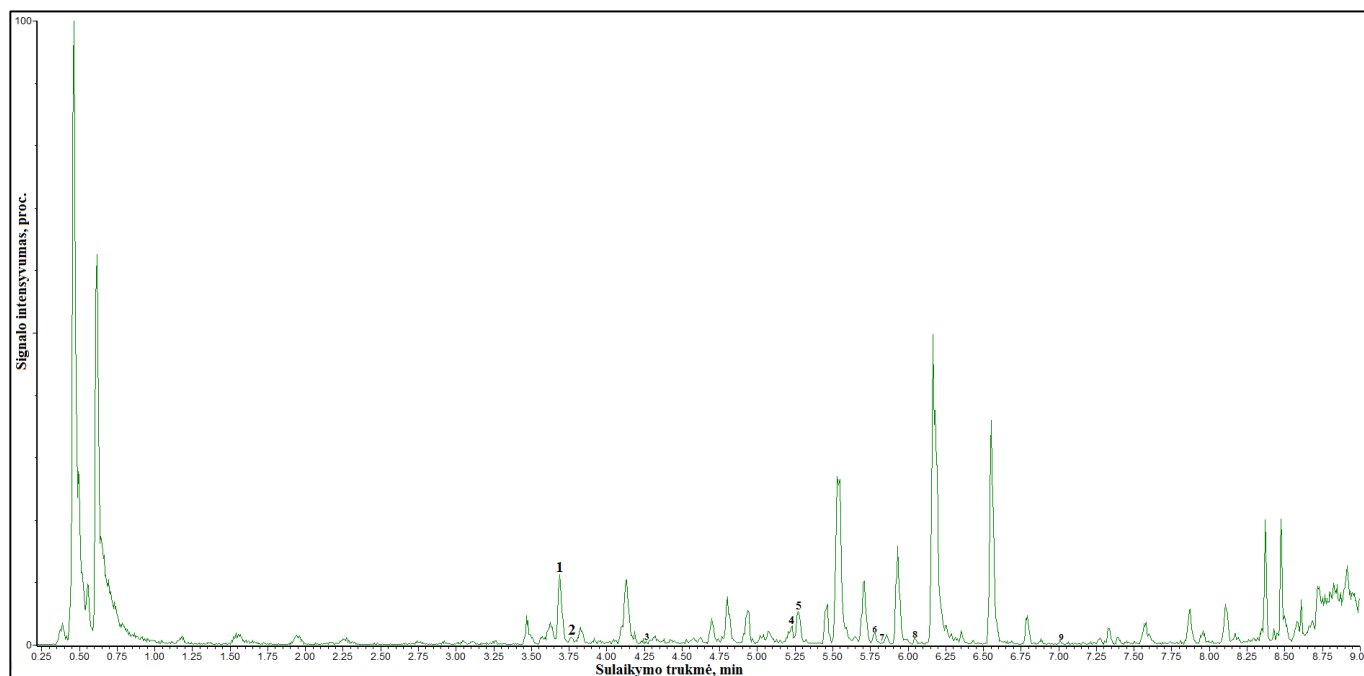


13 pav. Erškėčių vaisių ėminių ištraukų redukcinio aktyvumo in vitro įvairavimas brandimo metu 2019 m.; skirtingos raidės rodo statistiškai reikšmingus ($p < 0,05$) skirtumus tarp ėminių

Rezultatų duomenimis, skirtingų rūšių ir veislių erškėčių vaisių ėminių ištraukose nustatytas redukcinis aktyvumas 41,47–263,15 $\mu\text{mol TE/g}$, o paprastųjų erškėčių vaisių ėminių ištraukose brandimo metu 263,83–491,95 $\mu\text{mol TE/g}$. Moksliniuose straipsniuose FRAP metodu nustatytas redukcinis aktyvumas erškėčių vaisių ištraukose varijuoja nuo 349,33 iki 690,37 $\mu\text{mol TE/g}$ [38]. Bulgarijoje mokslininkai nustatė erškėčių vaisių ištraukose 309,5–390,1 $\mu\text{mol TE/g}$ redukcinį aktyvumą [39].

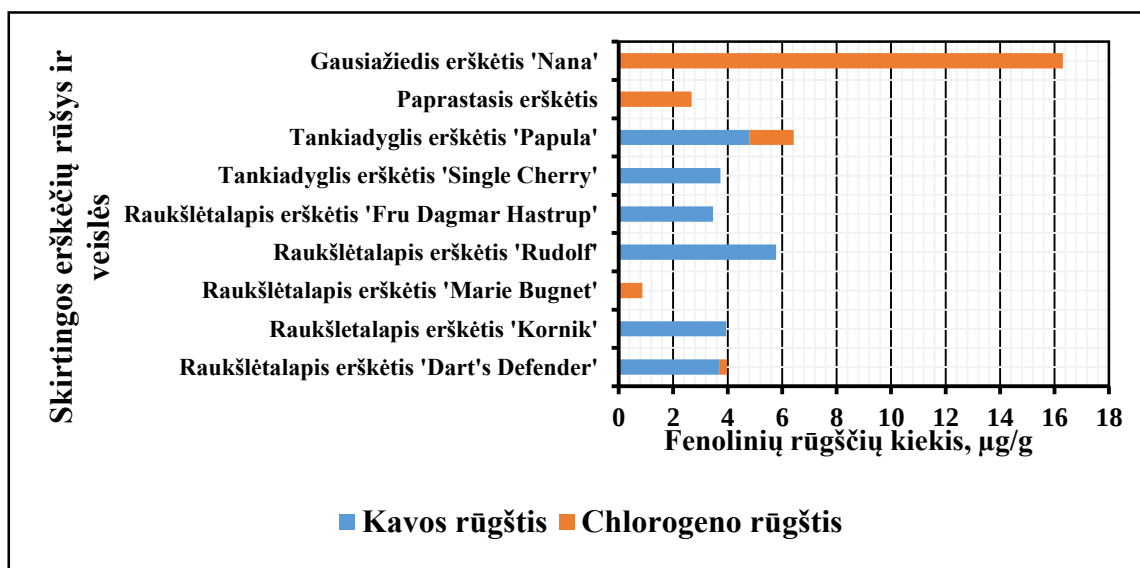
3.7. Fenolinių junginių kokybinės ir kiekybinės sudėties nustatymas UESC metodu erškėčių vaisių ėminiuose

Ultra–efektyviosios skysčių chromatografijos metodu identifikuoti ir kiekybiškai nustatyti fenoliniai junginiai augalinėje žaliavoje. Atlikus UESC analizę erškėčių vaisių ėminiuose identifikuoti fenoliniai junginiai: fenolinės rūgštys (kavos r., chlorogeno r.) ir flavonodai (kvercetas, kvercitrinas, (+)-katechinas, (-)-epikatechinas, (-)-epikatechino galatas, rutinas, florizinas, kemferol-3-O-gliukozidas). 14 paveiksle pateikiama gausiažiedžių erškėčių 'Nana' vaisių ištraukų UESC chromatograma.



14 pav. Gausiaziedžių erškėčių (veislė 'Nana') vaisių ištraukos UESC chromatograma; Skaičiai žymi identifikuotus junginius: 1 – (+)-katechinas, 2 – chlorogeno rūgštis, 3 – (-)-epikatechinas, 4 – rutinas, 5 – (-)-epikatechino galatas, 6 – kemferol-3-O-gliukozidas, 7 – kvercitrinas, 8 – florizinas, 9 – kvercetas

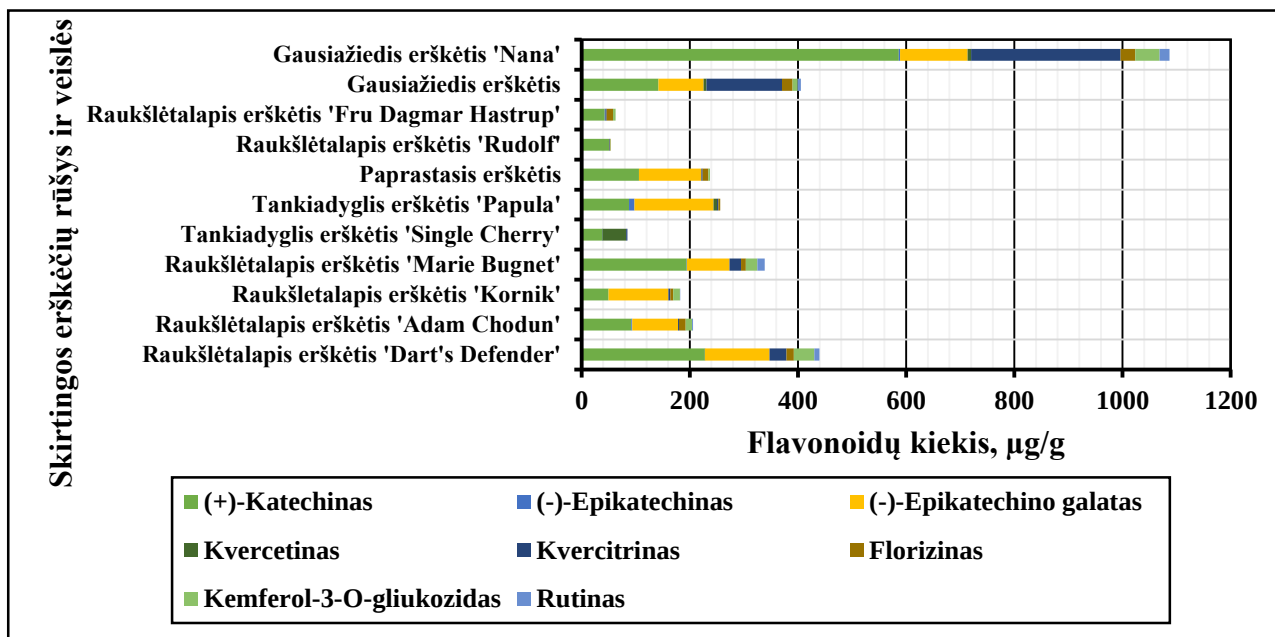
Gauti tyrimų rezultatai rodo, kad visi tirti erškėčių vaisių ėminiai kaupia vieną ar kelias fenolines rūgštis (kavos r. ir chlorogeno r.), išskyrus raukšlėtalapius erškėčius 'Adam Chodun' ir gausiaziedžius erškėčius, jų vaisių ėminiuose šie junginiai nebuvo identifikuoti (15 pav.).



15 pav. Fenolinių rūgščių kiekinės sudėties įvairavimas erškėčių vaisių ėminiuose

Nustatyta, kad didžiausias kavos rūgšties kiekis ($5,78 \pm 0,07 \mu\text{g/g}$, $p < 0,05$) yra raukšlėtalaپیų erškėčių 'Rudolf' vaisių ėminiuose. Mažiausi kavos rūgšties kiekiai nustatyti raukšlėtalaپیų erškėčių 'Fru Dagmar Hastrup' ($3,46 \pm 0,06 \mu\text{g/g}$), raukšlėtalaپیų erškėčių 'Dart's Defender' ($3,69 \pm 0,07 \mu\text{g/g}$) ir tankiadyglių erškėčių 'Single Cherry' ($3,73 \pm 0,03 \mu\text{g/g}$) vaisių ėminiuose. Raukšlėtalaپیų erškėčių veislėse 'Adam Chodun' ir 'Marie Bugnet', paprastųjų erškėčių, gausiažiedžių erškėčių ir gausiažiedžių erškėčių 'Nana' vaisių ėminiuose kavos rūgštis nenustatyta. Didžiausias chlorogeno rūgšties kiekis nustatytas gausiažiedžių erškėčių 'Nana' ($16,31 \pm 0,85 \mu\text{g/g}$, $p < 0,05$) vaisių ėminiuose. Mažiausias chlorogeno rūgšties kiekis nustatytas raukšlėtalaپیų erškėčių veislėse 'Dart's Defender' ($0,29 \pm 0,01 \mu\text{g/g}$) ir 'Marie Bugnet' ($0,87 \pm 0,01 \mu\text{g/g}$), tankiadyglių erškėčių 'Papula' ($1,62 \pm 0,08 \mu\text{g/g}$) vaisių ėminiuose. Raukšlėtalaپیų erškėčių veislėse ('Adam Chodun', 'Kornik', 'Rudolf', 'Fru Dagmar Hastrup'), tankiadyglių erškėčių 'Single Cherry' ir gausiažiedžių erškėčių vaisių ėminiuose chlorogeno rūgštis nebuvo identifikuota.

Ultra–efektyviosios skysčių chromatografijos metodu nustatyti erškėčių vaisiuose kaupiami flavonoidai: kvercetas, kvercitrinas, (+)-katechinas, (-)-epikatechinas, (-)-epikatechino galatas, rutinas, florizinas, kemferol-3-O-gliukozidas (16 pav).



16 pav. Flavonoidų kiekinės sudėties įvairavimas erškėčių vaisių ėminiuose

Erškėčių vaisių ėminiuose dominavo trys flavonoidų grupės junginiai: (+)-katechinas, (-)-epikatechino galatas ir kvercitrinas (2 lentelė).

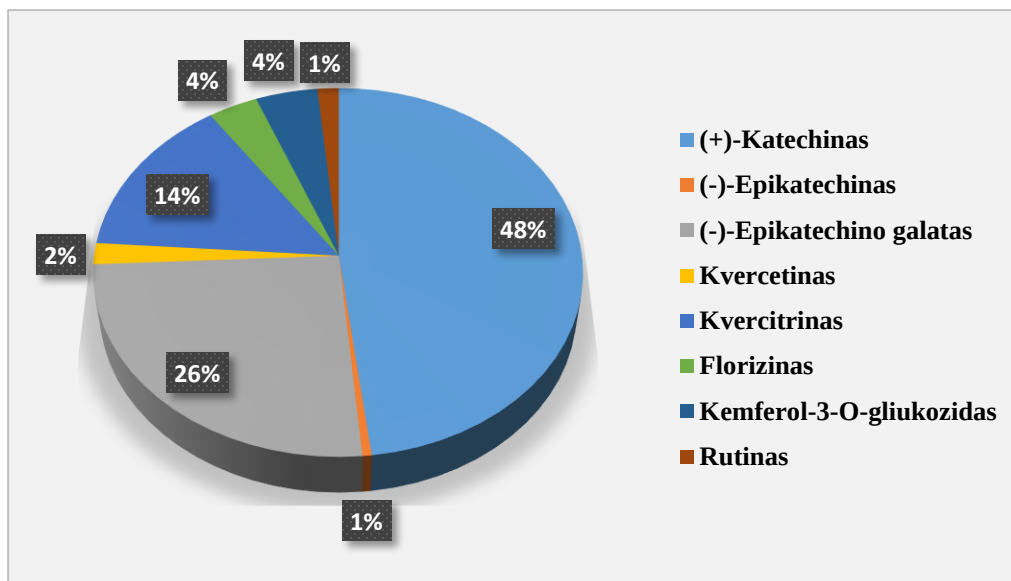
2 lentelė. UESC metodu nustatytų flavonoidų kiekiai erškėčių vaisių ėminiuose; Skirtingos raidės žymi statistiškai reikšmingus individualių fenolinių junginių kiekių skirtumus erškėčių vaisių ėminiuose ($p<0,05$)

Ėminiai /Junginiai, $\mu\text{g/g}$	(+)-Katechinas	(-)-Epikatechino galatas	Kvercitrinas
Raukšlėtalapis erškėtis 'Dart's Defender'	232,08 $\pm$ 3,92 ⁱ	122,67 $\pm$ 3,41 ^f	32,09 $\pm$ 1,03 ^f
Raukšlėtalapis erškėtis 'Adam Chodun'	93,73 $\pm$ 1,83 ^e	85,89 $\pm$ 1,53 ^c	1,75 $\pm$ 0,04 ^b
Raukšlėtalapis erškėtis 'Kornik'	50,38 $\pm$ 0,65 ^c	113,01 $\pm$ 2,42 ^d	3,83 $\pm$ 0,12 ^d
Raukšlėtalapis erškėtis 'Marie Bugnet'	197,96 $\pm$ 3,47 ^h	79,61 $\pm$ 0,83 ^a	21,88 $\pm$ 0,7 ^e
Tankiadyglis erškėtis 'Single Cherry'	39,43 $\pm$ 0,93 ^a	-	1,83 $\pm$ 0,04 ^b
Tankiadyglis erškėtis 'Papula'	89,17 $\pm$ 1,25 ^d	149,29 $\pm$ 2,76 ^h	2,52 $\pm$ 0,39 ^{b,c}
Paprastasis erškėtis	107,93 $\pm$ 1,93 ^f	117,52 $\pm$ 2,27 ^e	2,63 $\pm$ 0,01 ^{b,c}
Raukšlėtalapis erškėtis 'Rudolf'	52,1 $\pm$ 0,99 ^c	-	0,52 $\pm$ 0,42 ^a
Raukšlėtalapis erškėtis 'Fru Dagmar Hastrup'	43,66 $\pm$ 0,86 ^b	-	2,79 $\pm$ 0,13 ^{c,d}
Gausiažiedis erškėtis	145,37 $\pm$ 3,38 ^g	84,32 $\pm$ 0,76 ^b	142,58 $\pm$ 2,94 ^g
Gausiažiedis erškėtis 'Nana'	592,63 $\pm$ 6,39 ^y	126,15 $\pm$ 1,7 ^g	278,47 $\pm$ 2,65 ^h
Vidurkis, $\mu\text{g/g}$	149,49 $\pm$ 33,34	109,81 $\pm$ 5,94	44,62 $\pm$ 18,32

(+)-Katechinas identifikuotas visuose tirtų veislių erškėčių vaisių ėminiuose. Nustatyta, kad (+)-katechino kiekis erškėčių vaisių ėminiuose varijuoja nuo 592,63 $\pm$ $\mu\text{g/g}$ iki 39,43 $\pm$ $\mu\text{g/g}$. Tyrimo duomenimis apskaičiuotas vidutinis (+)-katechino kiekis yra 149,49 $\pm$ 33,34 $\mu\text{g/g}$. Didžiausias (+)-katechino kiekis nustatytas gausiažiedžių erškėčių 'Nana' vaisių ėminiuose (592,63 $\pm$ 6,39 $\mu\text{g/g}$, $p<0,05$), o mažiausias kiekis nustatytas tankiadyglių erškėčių 'Single Cherry' (39,43 $\pm$ 0,93 $\mu\text{g/g}$) ir raukšlėtalapių erškėčių veislių 'Fru Dagmar Hastrup' (43,66 $\pm$ 0,86 $\mu\text{g/g}$), 'Kornik' (50,38 $\pm$ 0,65 $\mu\text{g/g}$), 'Rudolf' (52,1 $\pm$ 0,99 $\mu\text{g/g}$) vaisių ėminiuose. (-)-Epikatechino galato erškėčių vaisiuose nustatyta nuo 79,61 $\pm$ 0,83 $\mu\text{g/g}$ iki 149,29 $\pm$ 2,76 $\mu\text{g/g}$. Erškėčių vaisiuose vidutiniškai nustatyta 109,81 $\pm$ 5,94 $\mu\text{g/g}$ (-)-epikatechino galato. Didžiausias (-)-epikatechino galato kiekis (149,29 $\pm$ 2,76 $\mu\text{g/g}$, $p<0,05$) nustatytas tankiadyglių erškėčių 'Papula' vaisių ėminiuose, mažiausias kiekis nustatytas raukšlėtalapių erškėčių 'Marie Bugnet' (79,61 $\pm$ 0,83 $\mu\text{g/g}$), gausiažiedžių erškėčių (84,32 $\pm$ 0,76 $\mu\text{g/g}$) ir raukšlėtalapių erškėčių 'Adam Chodun' (85,89 $\pm$ 1,53 $\mu\text{g/g}$) vaisių ėminiuose. (-)-Epikatechino galatas nebuvo identifikuotas tankiadyglių erškėčių 'Single Cherry', raukšlėtalapių erškėčių veislių 'Rudolf' ir 'Fru Dagmar Hastrup' vaisių ėminiuose. Kvercitrinas buvo identifikuotas visų tirtų erškėčių vaisių ėminiuose. Erškėčių vaisiuose vidutiniškai nustatyta 44,62 $\pm$ 18,32 $\mu\text{g/g}$ kvercitrino. Didžiausias (278,47 $\pm$ 2,65 $\mu\text{g/g}$, $p<0,05$) kvercitrino kiekis nustatytas gausiažiedžių

erškėčių 'Nana' vaisių ėminiuose. Mažiausias kvercitrino kiekis nustatytas raukšlėtapių erškėčių vaisių 'Rudolf' ($0,52 \pm 0,42 \mu\text{g/g}$) ir 'Adam Chodun' ($1,75 \pm 0,04 \mu\text{g/g}$), tankiadyglių erškėčių vaisių 'Single Cherry' ($1,83 \pm 0,04 \mu\text{g/g}$) ir 'Papula' ($2,52 \pm 0,39 \mu\text{g/g}$), paprastųjų erškėčių ($2,63 \pm 0,01 \mu\text{g/g}$), raukšlėtapių erškėčių vaisių 'Fru Dagmar Hastrup' ($2,79 \pm 0,13 \mu\text{g/g}$) ir 'Kornik' ($3,83 \pm 0,12 \mu\text{g/g}$) vaisių ėminiuose.

Kemferol-3-O-gliukozidas, florizinas, kvercetas, rutinas ir (-)-epikatechinas sudarė mažesnę procentinę dalį nei dominuojantys junginiai (17 pav.).



17 pav. Flavonoidų kiekinės sudėties įvairavimas erškėčių vaisių ėminiuose

Didžiausias kemferol-3-O-gliukozido kiekis ($46,47 \pm 1,38 \mu\text{g/g}$, $p < 0,05$) nustatytas gausiažiedžių erškėčių 'Nana' vaisių ėminiuose, o mažiausias kiekis nustatytas raukšlėtapių erškėčių 'Rudolf' ($0,68 \pm 0,01 \mu\text{g/g}$) ir paprastųjų erškėčių ($3,34 \pm 0,51 \mu\text{g/g}$) vaisių ėminiuose. Florizino didžiausias ($28,75 \pm 1,25$, $p < 0,05$) kiekis nustatytas gausiažiedžių erškėčių 'Nana' vaisių ėminiuose. Mažiausias florizino kiekis nustatytas raukšlėtapių erškėčių 'Rudolf' ($1,51 \pm 0,01 \mu\text{g/g}$), tankiadyglių erškėčių 'Papula' ($3,99 \pm 0,27 \mu\text{g/g}$) ir raukšlėtapių erškėčių 'Kornik' ($5,73 \pm 0,21 \mu\text{g/g}$) vaisių ėminiuose. Didžiausias ($43,96 \pm 0,12 \mu\text{g/g}$, $p < 0,05$) kiekis kvercetino nustatytas tankiadyglių erškėčių 'Single Cherry' vaisių ėminiuose. Mažiausias kvercetino kiekis nustatytas gausiažiedžių erškėčių ($5,56 \pm 0,32 \mu\text{g/g}$), tankiadyglių erškėčių 'Papula' ($6,73 \pm 0,32 \mu\text{g/g}$) ir gausiažiedžių erškėčių 'Nana' ($6,95 \pm 0,06 \mu\text{g/g}$) vaisių ėminiuose. Rutino didžiausias ($19,44 \pm 1,41 \mu\text{g/g}$, $p < 0,05$) kiekis nustatytas gausiažiedžių erškėčių 'Nana' vaisių ėminiuose, o mažiausias kiekis nustatytas raukšlėtapių erškėčių vaisių 'Kornik' ($0,87 \pm 0,11 \mu\text{g/g}$) ir 'Adam Chodun' ($1,54 \pm 0,04 \mu\text{g/g}$) vaisių ėminiuose. Didžiausias (-)-epikatechino kiekis ($9,71 \pm 0,04 \mu\text{g/g}$, $p < 0,05$) nustatytas tankiadyglių erškėčių

'Papula' vaisių ėminiuose, o mažiausias kiekis ($0,02 \pm 0,01 \mu\text{g/g}$, $p < 0,05$) nustatytas raukšlėtalapių erškėčių 'Dart's Defender' vaisių ėminiuose.

Didžiausias suminis identifikuotų fenolinių junginių kiekis nustatytas gausiažiedžių erškėčių 'Nana' vaisių ėminiuose ($1117,91 \mu\text{g/g}$), o mažiausias – raukšlėtalapių erškėčių 'Rudolf' vaisių ėminiuose ($60,59 \mu\text{g/g}$). Nustatyti erškėčių vaisiuose dominuojantys junginiai yra (+)-katechinas, (-)-epikatechino galatas ir kvercitrinas. Užsienio mokslininkų duomenimis, erškėčių vaisių ėminiuose identifikuojami fenoliniai junginiai: flavonoidai ((+)-katechinas, (-)-epikatechinas, rutinas, eriocitrinas, kvercetas, apigenin-7-O-gliukozidas, kemferolis, kvercitrinas, procianidinas, florizinas), fenolinės rūgštys (galo, vanilino, siringo, kaftaro, chlorogeno, kavos, kumarino, ferulo, 4-hidroksibenzenkarboksirūgštis) [8, 11, 25].

3.8. Rezultatų apibendrinimas

Tyrimo metu analizuojami skirtingų rūšių ir veislių vaisių ėminiai: raukšlėtalapių erškėčių veislės ('Rudolf', 'Dart's Defender', 'Marie Bugnet', 'Fru Dagmar Hastrup', 'Kornik', 'Adam chodun'), gausiažiedžių erškėčių veislė ('Nana') ir tankiadyglių erškėčių veislės ('Papula', 'Single Cherry'). Tiriami skirtingu brandimo metu (2019 m. liepos 1 d. - spalio 6 d.) rinkti paprastųjų erškėčių vaisių ėminiai.

Skirtingų rūšių ir veislių vaisių ėminiuose fenolinių junginių vidutiniškai nustatyta $28,03 \pm 2,05 \text{ mg GRE/g}$. Didžiausias fenolinių junginių kiekis nustatytas tankiadyglių erškėčių 'Single Cherry' vaisių ištraukose. Didžiausias fenolinių junginių kiekis brandimo metu paprastųjų erškėčių vaisių ėminiuose nustatytas spalio 7 dieną, rugsėjo 23 dieną ir rugsėjo 9 dieną. Vidutinis bendras hidroksicinamono rūgšties darinių kiekis skirtingų erškėčių rūšių ir veislių vaisių ėminiuose yra $7,01 \pm 0,49 \text{ mg CRE/g}$. Didžiausias hidroksicinamono rūgšties darinių kiekis nustatytas raukšlėtalapių erškėčių 'Dart's defender' ir raukšlėtalapių erškėčių 'Adam chodun' vaisių ėminiuose. Didžiausias hidroksicinamono rūgšties darinių kiekis paprastųjų erškėčių vaisių ėminiuose nustatytas spalio 7 dieną CRE/g) ir liepos 29 dieną. Vidutinis flavonoidų kiekis erškėčių vaisių ėminiuose yra $2,84 \pm 0,27 \text{ mg RE/g}$. Didžiausi flavonoidų kiekiai nustatyti gausiažiedžių erškėčių 'Nana' ir gausiažiedžių vaisių ėminiuose. Didžiausias flavonoidų kiekis paprastųjų erškėčių vaisių ėminiuose nustatytas liepos 29 dieną, rugpjūčio 26 dieną, rugpjūčio 12 dieną ir rugsėjo 9 dieną.

Ištirus skirtingų rūšių ir veislių erškėčių vaisių ėminių ištraukas nustatyta, kad vidutinis antiradikalinis aktyvumas yra $265,68 \pm 11,8 \mu\text{mol TE/g}$. Stipriausias antiradikalinis aktyvumas nustatytas ištirus tankiadyglių erškėčių 'Single Cherry' ir raukšlėtalių erškėčių 'Adam chodun' vaisių ėminių ištraukas, o brendimo metu ištirus paprastųjų erškėčių vaisių ėminių ištraukas spalio 7 dieną ir rugsėjo 23 dieną rinktuose vaisiuose. Vidutinis redukcinis aktyvumas ištirus įvairių erškėčių rūšių ir veislių vaisių ėminių ištraukas yra $137,81 \pm 13,92 \mu\text{mol TE/g}$. Stipriausias redukcinis aktyvumas nustatytas ištirus tankiadyglių erškėčių 'Single Cherry' ir raukšlėtalių erškėčių 'Adam chodun' vaisių ėminių ištraukas. Stipriausias redukcinis aktyvumas ištirus paprastųjų erškėčių vaisių ėminių ištraukas nustatytas spalio 7 dieną ir rugsėjo 23 dieną rinktuose vaisiuose. Nustatyta stipri koreliacija tarp bendro fenolinių junginių kiekio, antiradikalinio ($R=0,767$, $p<0,05$) ir redukcinio ($R=0,727$, $p<0,05$) aktyvumo įvairių erškėčių rūšių ir veislių ėminiuose. Ištirus paprastųjų erškėčių vaisių ėminius, rinktus brendimo metu, nustatytas stiprus koreliacinis ryšys ($R=0,891$, $p<0,05$) tarp bendro fenolinių junginių kiekio ir antiradikalinio aktyvumo, bei labai stiprus koreliacinis ryšys ($R=0,92$, $p<0,05$) tarp fenolinių junginių kiekio ir redukcinio aktyvumo. Atsižvelgiant į tyrimo duomenis galima teigti, kad fenolinių junginių kiekis augalinėje žaliavoje reikšmingai įtakoja antioksidacinį aktyvumą. Didėjant fenolinių junginių kiekiui, stiprėja antioksidacinis aktyvumas augalinės žaliavos ištraukose ir atvirkščiai.

Atlikus skirtingų erškėčių rūšių ir veislių ėminių analizę UESC metodu, identifikuoti junginiai: kavos r., chlorogeno r., kvercetas, kvercitrinas, (+)-katechinas, (-)-epikatechinas, (-)-epikatechino galatas, rutinas, florizinas, kemferol-3-O-glikozidas. Erškėčių vaisių ėminiuose vyraavo (+)-katechinas, (-)-epikatechino galatas ir kvercitrinas.

4. IŠVADOS

1. Atliktas erškėčių vaisių tinkamiausių ekstrakcijos sąlygų parinkimas. Didžiausias fenolinių junginių kiekis erškėčių vaisių ėminiuose nustatytas ekstrahuojant 50 min., esant 1130 W ultragarso vonelės galiai, kaip ekstrahentą naudojant 40 proc. etanolį (v/v).
2. Tiriant bendrą hidroksicinamono rūgšties darinių kiekį skirtingų erškėčių rūšių ir veislių vaisių ėminiuose nustatyta, kad didžiausias kiekis yra raukšlėtalapių erškėčių 'Dart's defender' ($11,76 \pm 0,12$ mg CRE/g, $p < 0,05$) ir raukšlėtalapių erškėčių 'Adam chodun' ($9,68 \pm 1,96$ mg CRE/g, $p < 0,05$) vaisiuose. Brendimo metu rinktų paprastųjų erškėčių vaisių ėminiuose didžiausias hidroksicinamono rūgšties darinių kiekis nustatytas spalio 7 dieną ($10,65 \pm 0,25$ mg CRE/g, $p < 0,05$) ir liepos 29 dieną ($10,43 \pm 0,07$ mg CRE/g, $p < 0,05$). Skirtingų erškėčių rūšių ir veislių vaisių ėminiuose didžiausias flavonoidų kiekis nustatytas gausiažiedžių erškėčių 'Nana' ($5,01 \pm 0,01$ mg RE/g, $p < 0,05$) ir gausiažiedžių erškėčių ($4,8 \pm 0,06$ mg RE/g, $p < 0,05$) vaisiuose. Brendimo metu rinktų paprastųjų erškėčių vaisių ėminiuose didžiausias flavonoidų kiekis nustatytas liepos 29 dieną ($2,23 \pm 0,11$ mg RE/g, $p < 0,05$), rugpjūčio 26 dieną ($2,04 \pm 0,03$ mg RE/g, $p < 0,05$), rugpjūčio 12 dieną ($2,08 \pm 0,02$ mg RE/g, $p < 0,05$) ir rugsėjo 9 dieną ($1,88 \pm 0,04$ mg RE/g, $p < 0,05$). Ištyrus bendrą fenolinių junginių kiekį skirtingų erškėčių rūšių ir veislių vaisių ėminiuose nustatyta, kad didžiausias fenolinių junginių kiekis kaupiamas tankiadyglių erškėčių 'Single Cherry' vaisiuose ($50,13 \pm 4,17$ mg GRE/g, $p < 0,05$). Brendimo metu rinktų paprastųjų erškėčių vaisių ėminiuose didžiausias fenolinių junginių kiekis nustatytas spalio 7 dieną ($51,49 \pm 0,52$ mg GRE/g, $p < 0,05$), rugsėjo 23 dieną ($51,4 \pm 1,72$ mg GRE/g, $p < 0,05$) ir rugsėjo 9 dieną ($45,84 \pm 1,22$ mg GRE/g, $p < 0,05$).
3. Ištyrus skirtingų erškėčių rūšių ir veislių vaisių ištraukas nustatyta, kad stipriausias DPPH metodu įvertintas antiradikalinis aktyvumas yra tankiadyglių erškėčių 'Single Cherry' ($397,2 \pm 16,59$ μ mol TE/g, $p < 0,05$) ir raukšlėtalapių erškėčių 'Adam chodun' ($335,53 \pm 11,13$ μ mol TE/g, $p < 0,05$) vaisių ėminių ištraukose, o stipriausias FRAP metodu įvertintas redukcinis aktyvumas yra tankiadyglių erškėčių 'Single Cherry' ($263,15 \pm 9,83$ μ mol TE/g, $p < 0,05$) ir raukšlėtalapių erškėčių 'Adam chodun' ($229,56 \pm 4,74$ μ mol TE/g, $p < 0,05$) vaisių ėminių ištraukose. Stipriausias antiradikalinis aktyvumas ištyrus paprastųjų erškėčių vaisių ėminių ištraukas nustatytas spalio 7 dieną ($434,85 \pm 2,48$ μ mol TE/g, $p < 0,05$) ir rugsėjo 23 dieną ($431,22 \pm 3,34$ μ mol TE/g, $p < 0,05$), o stipriausias redukcinis aktyvumas nustatytas spalio 7 dieną ($491,95 \pm 3,86$ μ mol TE/g, $p < 0,05$) ir rugsėjo 23 dieną ($476,33 \pm 12,7$ μ mol TE/g, $p < 0,05$).

4. Ultra-efektyviosios skysčių chromatografijos metodu erškėčių vaisių ėminiuose identifikuoti fenoliniai junginiai: fenolinės rūgštys (kavos r., chlorogeno r.) ir flavonodai (kvercetas, kvercitrinas, (+)-katechinas, (-)-epikatechinas, (-)-epikatechino galatas, rutinas, florizinas, kemferol-3-O-gliukozidas).
5. Statistiškai išanalizavus duomenis nustatyta, kad yra stipri koreliacija tarp bendro fenolinių junginių kiekio ir antiradikalinio aktyvumo skirtingų rūšių ir veislių erškėčių vaisių ėminiuose ($R=0,767$, $p<0,05$) ir brandimo metu rinktų paprastųjų erškėčių vaisių ėminiuose ($R=0,891$, $p<0,05$). Įvertinus bendro fenolinių junginių kiekio koreliaciją su erškėčių vaisių redukciniu aktyvumu, nustatytas stiprus koreliacinis ryšys skirtingų rūšių ir veislių erškėčių vaisių ėminiuose ($R=0,727$, $p<0,05$) ir labai stipri koreliacija brandimo metu rinktų paprastųjų erškėčių vaisių ėminiuose ($R=0,92$, $p<0,05$).

5. PRAKTINĖS REKOMENDACIJOS

Erškėčių vaisiai yra vertinga vaistinė augalinė žaliava, kaupianti biologiškai aktyvius junginius – fenolines rūgštis ir flavonoidus. Atsižvelgiant į gautus tyrimo duomenis, rekomenduojama įvairių vaistinių preparatų gamybai naudoti tankiadyglių erškėčių veislės 'Single Cherry' ir raukšlėtalapių erškėčių veislės 'Adam chodun' vaisius. Šių erškėčių rūšių ir veislių vaisių ėminių ištraukose nustatytas stipriausias antioksidacinis aktyvumas *in vitro*.

Rekomenduojama rinkti visiškai sunokusius erškėčių vaisius, nes tokie vaisiai kaupia didžiausią fenolinių junginių kiekį ir jų ištraukos pasižymi stipriausiomis antioksidacinėmis savybėmis.

6. LITERATŪRA

1. Aleksandravičiūtė B, Bagdonaitė A, Butkienė S, Butkus S, Cibiras L, Galinis V ir kt. Lietuvos TSR FLORA, IV tomas. Lietuvos TSR mokslų akademija, Botanikos institutas. Vilnius, 1971. p. 117-139.
2. Lekavičius A. Vadovas augalams pažinti. 1989. p. 150-153.
3. Navasaitis M. Dendrologija; 2004. p. 518-527.
4. Ahmad N, Anwar F, Gilani A. Rose hip (*Rosa canina* L.) Oils. Essential oils in Food Preservation, Flavor and Safety. 2016;667–675.
5. Ayati Z, Amiri M S, Ramezani M, Delshad E, Sahebkar A, Emami S. A. Phytochemistry, traditional uses and pharmacological profile of rose hip: A review. Current Pharmaceutical Design. 2018;24:1-24.
6. Andersson S C, Rumpunen K, Johansson E, Olsson M E. Carotenoid content and composition in rose hips (*Rosa* spp.) during ripening, determination of suitable maturity marker and implications for health promoting food products. Food Chemistry. 2011;128(3):689–696.
7. Barros L, Carvalho A. M, Ferreira I C. F. R. Exotic fruits as a source of important phytochemicals: Improving the traditional use of *Rosa canina* fruits in Portugal. Food Research International. 2011;44(7):2233–2236.
8. Bhawe A, Schulzova V, Chmelarova H, Mrnka L, Hajslova J. Assessment of rosehips based on the content of their biologically active compounds. Journal of Food and Drug Analysis. 2017;25(3):681–690.
9. Brewer M S. Natural Antioxidants: Sources, Compounds, Mechanisms of Action, and Potential Applications. Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety. 2011;10(4):221–247.
10. Cagle P, Idassi O, Carpenter J, Minor R, Goktepe I and Martin P. Effect of rosehip (*Rosa Canina*) extracts on human brain tumor cell proliferation and apoptosis. Journal of Cancer Therapy. 2012;3(5): 534-545.
11. Demir N, Yildiz O, Alpaslan M, Hayaloglu A A. (2014). Evaluation of volatiles, phenolic compounds and antioxidant activities of rose hip (*Rosa* L.) fruits in Turkey. LWT - Food Science and Technology. 2014;57(1):126–133.
12. Ersoy N, Bagci Y, Zenginbal H, Ozen M S, Yalcin Elidemir A Y. Antioxidant properties of Rosehip fruit types (*Rosa canina* sp.) selected from Bolu-Turkey. International Journal of Science and Knowledge. 2015; ISSN: 2322-195X Vol.4; No.1;51-59.

13. Fascella G, D'Angiolillo F, Mammano M M, Amenta M, Romeo F V, Rapisarda P, Ballistreri G. Bioactive compounds and antioxidant activity of four rose hip species from spontaneous Sicilian flora. *Food Chemistry*. 2019;289:56–64.
14. Fattahi A, Niyazi F, Shahbazi B, Farzaei M H, Bahrami G. Antidiabetic Mechanisms of *Rosa canina* Fruits. *Journal of Evidence-Based Complementary & Alternative Medicine*. 2016;22(1):127–133.
15. Ghazghazi H, Miguel M G, Hasnaoui B, Sebei H, Ksontini M, Figueiredo A C ir kt. Phenols, essential oils and carotenoids of *Rosa canina* from Tunisia and their antioxidant activities. *African Journal of Biotechnology*. 2010;9(18):2709-2716.
16. Ghendov-Moşanu A, Cojocari D, Balan G, Sturza R. Antimicrobial activity of rose hip and hawthorn powders on pathogenic bacteria. *Journal of Engineering Science, Biotechnologies, Food Chemistry and Food Safety*. 2018; 25(4):100–107.
17. González-Burgos E, Liaudanskas M, Viškelis J, Ţvikas V, Janulis V, Gómez-Serranillos M. P. Antioxidant activity, neuroprotective properties and bioactive constituents analysis of varying polarity extracts from *Eucalyptus globulus* leaves. *Journal of food and drug analysis*. 2018;26(4):1293-1302.
18. Gruenwald J, Uebelhack R, Moré M I. *Rosa canina* - Rose Hip Pharmacological Ingredients and Molecular Mechanics Counteracting Osteoarthritis – a Systematic Review. *Phytomedicine*. 2019;152958: 1-9.
19. Guide for the elaboration of monographs on herbal drugs and herbal drug preparations. European Pharmacopoeia, European Directorate for the Quality of Medicines and HealthCare, 2007
20. Heinrich M, Barnes J, Prieto-Garcia J, Gibbons S, Williamson E M. *Fundamentals of Pharmacognosy and Phytotherapy*. 2018;4-10.
21. Hummer K E, Janick J. *Rosaceae: Taxonomy, Economic Importance, Genomics. Genetics and Genomics of Rosaceae*. 2009;1–17.
22. Ilyasoğlu H. Characterization of Rosehip (*Rosa canina* L.) Seed and Seed Oil. *International Journal of Food Properties*. 2014;17(7):1591–1598.
23. Yilmaz S O, Ercisli S. Antibacterial and antioxidant activity of fruits of some rose species from Turkey. *Romanian Biotechnological Letters*, Vol. 16, No. 4. 2011;6407-6411.
24. Jiménez S, Jiménez-Moreno N, Luquin A, Laguna M, Rodríguez-Yoldi M J, Ancín-Azpilicueta C. (2017). Chemical composition of rosehips from different *Rosa* species: an alternative source of antioxidants for the food industry. *Food Additives and Contaminants: Part A*. 2017;34(7): 1121–1130.
25. Koczka N, Stefanovits-Bányai É, Ombódi A. Total Polyphenol Content and Antioxidant Capacity of Rosehips of Some *Rosa* Species. *Medicines*, 2018;5(3),84:1-7.

26. Leahu A, Damian C, Oroian M, Ropciuc S, Rotaru R. Influence of Processing on Vitamin C Content of Rosehip Fruits. *Scientific Papers: Animal Science and Biotechnologies*. 2014;47(1):116-120.
27. Lei Z, Cao Z, Yang Z, Ao M, Jin W, Yu L. Rosehip Oil Promotes Excisional Wound Healing by Accelerating the Phenotypic Transition of Macrophages. *Planta Medica*. 2018;2-5.
28. Mármol I, Sánchez-de-Diego C, Jiménez-Moreno N, Ancín-Azpilicueta C, Rodríguez-Yoldi M. Therapeutic Applications of Rose Hips from Different Rosa Species. *International Journal of Molecular Sciences*. 2017;18(6),1137:1-30.
29. Nađpal J D , Lesjak M M, Mrkonjić Z O, Majkić T M, Četojević-Simin D D , Mimica-Dukić N M , Beara I N. Phytochemical composition and in vitro functional properties of three wild rose hips and their traditional preserves, *Food Chemistry*. 2018;21-24.
30. Nađpal J. D, Lesjak M M, Šibul F. S, Anačkov G T, Četojević-Simin D D, Mimica-Dukić N M, Beara I N. Comparative study of biological activities and phytochemical composition of two rose hips and their preserves: *Rosa canina* L. and *Rosa arvensis* Huds. *Food Chemistry*, 2016;192:907–914.
31. Nojavan S, Khalilian F, Kiaie F M, Rahimi A, Arabanian A, Chalavi S. Extraction and quantitative determination of ascorbic acid during different maturity stages of *Rosa canina* L. fruit. *Journal of Food Composition and Analysis*. 2008;21(4):300–305.
32. Patel S. Rose hips as complementary and alternative medicine: overview of the present status and prospects. *Mediterranean Journal of Nutrition and Metabolism*. 2012; 6(2): 89–97.
33. Roman I, Stănilă A, Stănilă S. Bioactive compounds and antioxidant activity of *Rosa canina* L. biotypes from spontaneous flora of Transylvania. *Chemistry Central Journal*. 2013;7(1),73:1-9.
34. Seifi M, Abbasalizadeh S, Mohammad-Alizadeh-Charandabi S, Khodaie L, Mirghafourvand M. The effect of Rosa (L. *Rosa canina*) on the incidence of urinary tract infection in the puerperium: A randomized placebo-controlled trial. *Phytotherapy Research*. 2017; 32(1): 76–83.
35. Shahidi F, Zhong Y. Novel antioxidants in food quality preservation and health promotion. *European Journal of Lipid Science and Technology*. 2010;112(9):930–940.
36. Shaw D, Graeme L, Pierre D, Elizabeth W, Kelvin C. Pharmacovigilance of herbal medicine. *Journal of Ethnopharmacology*. 2012;140(3),513–518.
37. Taghizadeh M, Rashidi A A, Taherian A A, Vakili Z, Sajad Sajadian M, Ghardashi M. Antidiabetic and antihyperlipidemic effects of ethanol extract of *rosa canina* L. fruit on diabetic rats. *Journal of Evidence-Based Complementary & Alternative Medicine*. 2016; 21(4), 25–30.

38. Tahirović A, Bašić N. Determination of phenolic content and antioxidant activity of *Rosa canina* L. fruits in different extraction. Works of the Faculty of Forestry University of Sarajevo. No. 1, 2017;47-59.
39. Taneva I, Petkova N, Dimov I, Ivanov I, Denev P. Characterization of rose hip (*Rosa canina* L.) fruits extracts and evaluation of their in vitro antioxidant activity. Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry. 2016;5(2):35-38.
40. Tumbas V T, Čanadanović-Brunet J M, Četojević-Simin D D, Ćetković G S, Đilas S M, Gille L. Effect of rosehip (*Rosa canina* L.) phytochemicals on stable free radicals and human cancer cells. Journal of the Science of Food and Agriculture. 2011;92(6):1273-1281.
41. Turan I, Demir S, Kilinc K, Yaman S O, Misir S, Kara H, ir kt. Cytotoxic effect of *Rosa canina* extract on human colon cancer cells through repression of telomerase expression. Journal of Pharmaceutical Analysis. 2017; 3-13.
42. Valerón-Almazán P, Gómez-Duaso A J, Santana-Molina N, García-Bello M A, Carretero G. Evolution of Post-Surgical Scars Treated with Pure Rosehip Seed Oil. Journal of Cosmetics, Dermatological Sciences and Applications. 2015; 5: 161-167.
43. Vossen E, Utrera M, De Smet S, Morcuende D, Estévez M. Dog rose (*Rosa canina* L.) as a functional ingredient in porcine frankfurters without added sodium ascorbate and sodium nitrite. Meat Science. 2012;92(4):451–457.
44. Zhong L, Gustavsson K-E, Oredsson S, Głab B, Yilmaz J L, Olsson M. E. Determination of free and esterified carotenoid composition in rose hip fruit by HPLC-DAD-APCI+-MS. Food Chemistry. 2016;210:541–550.
45. Wang L, Zhang B, Xiao J, Huang Q, Li C, Fu X. Physicochemical, functional, and biological properties of water-soluble polysaccharides from *Rosa roxburghii* Tratt fruit. Food Chemistry. 2018;249:127–135.
46. WHO Guidelines on Good Agricultural and Collection Practices [GACP] for Medicinal Plants. World Health Organization, Geneva. 2003;1-26.