

LIETUVOS SVEIKATOS MOKSLŲ UNIVERSITETAS  
FARMACIJOS FAKULTETAS  
VAISTŲ TECHNOLOGIJOS IR SOCIALINĖS FARMACIJOS KATEDRA

**DOVILĖ DILBAITĖ-LEKSTUTIENĖ**

**SIRUPO SU PANKOLIŲ VAISIŲ, BERŽŲ LAPŲ IR  
NAŠLAIČIŲ ŽOLĖS SKYSTAISIAIS EKSTRAKTAIS  
TECHNOLOGIJA**

**Magistro baigiamasis darbas**

**Darbo vadovas**  
Doc. dr. Saulė Velžienė

KAUNAS, 2015

LIETUVOS SVEIKATOS MOKSLŲ UNIVERSITETAS  
FARMACIJOS FAKULTETAS  
VAISTŲ TECHNOLOGIJOS IR SOCIALINĖS FARMACIJOS KATEDRA

**TVIRTINU:**

Farmacijos fakulteto dekanas prof. Vitalis Briedis  
Data

**SIRUPO SU PANKOLIŲ VAISIŲ, BERŽŲ LAPŲ IR  
NAŠLAIČIŲ ŽOLĖS SKYSTAISIAIS EKSTRAKTAIS  
TECHNOLOGIJA**

**Magistro baigiamasis darbas**

Darbo vadovė  
Doc. dr.  
Data

Saulė Velžienė

Recenzentas

Data

Darbą atliko  
Magistrantė  
Data

Dovilė Dilbaitė-Lekstutienė

KAUNAS, 2015

# TURINYS

SANTRAUKA .....	5
SUMMARY .....	6
SANTRUMPOS .....	7
ĮVADAS.....	8
DARBO TIKSLAS IR UŽDAVINIAI.....	10
1. LITERATŪROS APŽVALGA .....	11
1.1. Paprastasis pankolis ( <i>Foeniculum vulgare</i> Mill.) .....	11
1.1.1. Paprastojo pankolio apibūdinimas .....	11
1.1.2. Paprastųjų pankolių vaisių cheminė sudėtis .....	11
1.1.3. Paprastųjų pankolių vaisių poveikis ir naudojimas .....	12
1.2. Karpotasis beržas ( <i>Betula Pendula</i> Roth.).....	13
1.2.1. Karpotojo beržo apibūdinimas.....	13
1.2.2. Karpotųjų beržų lapų cheminė sudėtis.....	14
1.2.3. Karpotųjų beržų lapų poveikis.....	16
1.3. Trispalvė našlaitė ( <i>Viola tricolor</i> L.) .....	17
1.3.1. Trispalvės našlaitės apibūdinimas .....	17
1.3.2. Trispalvių našlaičių žolės cheminė sudėtis.....	18
1.3.3. Trispalvių našlaičių žolės poveikis ir panaudojimas .....	19
1.4. Oksidacinis stresas ir antioksidantai .....	19
1.5. Augaliniai polifenoliniai junginiai .....	20
1.6. Sirupai ( <i>Sirupus</i> ) .....	21
1.6.1. Sirupų apibūdinimas ir privalumai .....	21
1.6.2. Sirupų pagalbinės medžiagos .....	22
1.6.3. Sirupų gamyba .....	23
1.6.4. Sirupų kokybės vertinimas .....	24
1.7. Ekstrakcija.....	24
2. TYRIMO METODIKA IR METODAI .....	26
2.1. Medžiagos ir prietaisai.....	26
2.2. Pankolių vaisių, beržų lapų, našlaičių žolės skystųjų ekstraktų gamyba maceracijos ir perkoliacijos būdu.....	27
2.2.1. Ekstraktų gamyba.....	27
2.2.1.1. Perkoliacija .....	27
2.2.1.2. Maceracija .....	27
2.3. Sirupų gamyba .....	28
2.3.1. Sirupų receptūra .....	28

2.3.2.	Paprastojo sirupo gamyba .....	29
2.4.	Analizės metodai.....	29
2.4.1.	Sauso likučio kiekio nustatymas .....	29
2.4.2.	Antioksidacinio aktyvumo nustatymas DPPH·(2,2-difenil-1-pikrilhidrazilo) laisvuju radikalu .....	29
2.4.3.	Bendro fenolinių junginių kiekio nustatymas spektrofotometriniu metodu .....	30
2.4.4.	Klampos nustatymas sirupuose.....	31
2.4.5.	Sirupų lūžio rodiklio nustatymas .....	31
2.4.6.	Sirupų juslinių savybių įvertinimas .....	31
2.4.7.	Sirupų stabilumo stebėjimas .....	31
2.4.8.	Statistinė analizė .....	31
3.	REZULTATAI IR JŲ APTARIMAS .....	32
3.1.	Skystųjų ekstraktų sauso likučio kiekis, antioksidacinis aktyvumas ir bendras fenolinių junginių kiekis.....	32
3.2.	Pasirinktų ekstraktų antioksidacinio aktyvumo, sauso likučio kiekio ir bendro fenolinių junginių kiekio palyginimas.....	37
3.3.	Optimalios etanolinio tirpalo koncentracijos nustatymas beržų lapų, pankolių vaisių ir našlaičių žolės skystųjų ekstraktų gamybai .....	38
3.4.	Sirupų antioksidacinis aktyvumas ir bendras fenolinių junginių kiekis .....	39
3.5.	Sirupų klampos priklausomybė nuo skystųjų ekstraktų kiekio.....	39
3.6.	Sirupų juslinės savybės .....	41
3.7.	Sirupų stabilumas.....	42
4.	IŠVADOS.....	43
	PRAKTINĖS REKOMENDACIJOS.....	44
	LITERATŪRA .....	45
	PRIEDAI.....	50

## SANTRAUKA

D. Dilbaitė-Lekstutienė. Magistro baigiamasis darbas „Sirupo su pankolių vaisių, beržų lapų ir našlaičių žolės skystaisiais ekstraktais technologija“. Mokslinė vadovė: doc.dr. S. Velžienė. Lietuvos sveikatos mokslų universiteto, Farmacijos fakulteto, Vaistų technologijos ir socialinės farmacijos katedra. Kaunas, 2015.

**Darbo tikslas:** Pagaminti vaistinį sirupą, į kurį įeina trispalvių našlaičių žolės, paprastųjų pankolių vaisių ir karpotųjų beržų lapų skystieji etanoliniai ekstraktai bei įvertinti jo kokybę ir stabilumą.

**Darbo uždaviniai:**

1. Remiantis analizuojamos mokslinės literatūros ir atliktų tyrimų duomenimis, parinkti racionalią ekstrahento (etanolio) koncentraciją.
2. Palyginti dviejų augalinių žaliavų ekstrahavimo metodų (perkoliacijos ir maceracijos) efektyvumą.
3. Pagaminti augalinių žaliavų skystuosius etanolinius ekstraktus, pagaminti paprastąjį sirupą; iš pagamintų ekstraktų sukombinuoti vaistingąjį sirupą.
4. Atlikti pagamintų skystųjų ekstraktų gravimetrinį ir spektrofotometrinį vertinimą.
5. Naudojant analizės metodus, atlikti pagamintų vaistingųjų sirupų kokybės ir stabilumo vertinimą.

**Tyrimo objektai:** trispalvių našlaičių žolės, paprastųjų pankolių vaisių ir karpotųjų beržų skystieji etanoliniai ekstraktai, vaistingieji sirupai, sudėtyje turintys šių augalinių ekstraktų.

**Metodai:** Ekstraktai analizuojami gravimetriniu sauso likučio kiekio tyrimu, spektrofotometriniu antioksidacinių savybių tyrimu, bendro fenolinių junginių kiekio nustatymu. Sirupai analizuoti naudojant refraktometrį sirupo tyrimą, sirupo dinaminės klampos tyrimą, spektrofotometrinių antioksidacinio aktyvumo tyrimą ir bendro fenolinių junginių kiekio nustatymą, sirupų stabilumo stebėjimą.

**Tyrimo rezultatai ir išvados:** Ekstraktų gamybai nustatyta optimali etanolinio tirpalo koncentracija - 50% (v/v). Nustatyta, kad efektyvesnis augalinių žaliavų ekstrahavimo metodas yra perkoliacija. Didžiausią antioksidacinį aktyvumą ( $80,12 \pm 4,0\%$ ) ir bendrą fenolinių junginių kiekį ( $1,82 \pm 0,04$  mg/ml GRE) turėjo sirupas S6. Sirupo sudėtyje - perkoliacijos metodu gauti ekstraktai, naudojant 50% (v/v) etanolinį tirpalą: 3g našlaičių žolės ekstrakto, 2g pankolių vaisių ekstrakto, 10g beržų lapų ekstrakto. Geriausiomis juslinėmis savybėmis pasižymėjo sirupas S5, kurio sudėtis – 3g našlaičių žolės ekstrakto, 2g pankolių vaisių ekstrakto, 5g beržų lapų ekstrakto. Šis sirupas turėjo priimtina skoni, kvapą ir konsistenciją. Pagaminti sirupai išliko stabilūs 24 mėnesius, laikant juos  $25 \pm 2^\circ\text{C}$  temperatūroje, esant  $60 \pm 5\%$  santykinei drėgmei, tamsioje, gerai vėdinamoje vietoje.

## SUMMARY

**Aim of research** – to produce a single syrup with best properties, which contains ethanolic liquid extracts of heartsease herb, fennel fruits and silver birch leaves; determine syrup's quality and stability.

**Tasks of research:**

1. Select the right concentration of extractant (ethanol) according to science publications and the research results.
2. Compare the efficiency of two extraction methods (percolation and maceration) for herbal materials.
3. Produce liquid herbal extracts and simple sugar syrup; compose a therapeutic herbal syrup.
4. Perform gravimetric and spectrophotometric evaluation of produced liquid extracts.
5. Using methods of analysis, evaluate syrups' quality and stability.

**Objects of research:** liquid extracts of heartsease herb, fennel fruits, silver birch leaves, therapeutic syrups with produced herbal extracts.

**Methods:** Extracts were analyzed by gravimetric dry residue method, spectrophotometric antioxidant activity evaluation (DPPH radical scavenging method) and spectrophotometric method for total amount of phenolic compounds expressed by gallic acid. Syrups were analyzed using refractive index method, evaluation of antioxidant activity by spectrophotometric method and spectrophotometric method for total amount of phenolic compounds, dynamic viscosity, organoleptic properties and stability research.

**Results and conclusions:** Suitable concentration of ethanol for birch leaves, heartsease herb and fennel fruits liquid extracts production is 50% (v/v). The most efficient extraction method is percolation. The highest antioxidant properties ( $80,12 \pm 1,6\%$ ) and the highest amount of total phenolic compounds ( $1,82 \pm 0,04$  mg/ml GAE) contained syrup S6, consisting of 3g heartsease herb extract, 2g fennel fruits extract, 10g birch leaves extract. The best organoleptic properties contained syrup S5, consisting of 3g heartsease herb extract, 2g fennel fruit extract, 5g birch leaves extract. Syrup S5 had acceptable taste, smell and consistency. Being held at  $25 \pm 2^\circ\text{C}$  temperature and  $60 \pm 5\%$  humidity in dark place for 24 months, syrups' quality remained stable.

## SANTRUMPOS

**AA** – antioksidacinis aktyvumas

**DPPH** - 2,2-difenil-1-pikrilhidrazilo laisvasis radikalas

***E.coli*** – *Escherichia coli*

**GRE** – galo rūgšties ekvivalentas

**GAE** – galic acid equivalent

**M** – maceracija

**P** – perkoliacija

**Ph.Eur.**–Europos farmakopėja

**ROS** – reaktyvios deguonies formos

**S1,S2** – sirupas 1, sirupas 2

## IVADAS

**Temos aktualumas.** Kasmet vis didėja susidomėjimas augaliniais preparatais, tuo pačiu auga jų pasiūla ir paklausa. Tokią situaciją nulėmė visuomenės noras sveikatos būklę gerinti natūraliais būdais. Didėjant pasaulio užterštumui, propaguojant nesveiką gyvenimo būdą, sergamumas oksidacinio streso sukeltomis lėtinėmis ir ūminėmis ligomis didėja.

**Teorinė ir praktinė reikšmė.** Nuo seno liaudies medicinoje pankolių vaisiai, našlaičių žolė, beržų lapai yra vartojami įvairiomis indikacijomis. Šios žaliavos pasirinktos komponuojant vaistinių sirupų. Pankolio vaisiai vartojami esant meteorizmui, žarnyno spazmams, dažnai skiriami vartoti vaikams. Taip pat pasižymi bronchų sekretą skystinančiu poveikiu, skatina atsikosėjimą. Beržų lapuose kaupiasi didelis kiekis fenolinių junginių (flavonoidų), todėl jis liaudies medicinoje naudojamas kaip šlapimo išsiskyrimą skatinanti, šlapimo takų uždegimą mažinanti priemonė. Nuovirai mažina cholesterolio kiekį kraujyje, turi baktericidinių savybių. Lapų spiritinis užpilas pagal liaudies medicinos išmintį rekomenduojamas vartoti esant pneumonijai, bronchinei astmai. Trispalvių našlaičių žolė nuo seno naudota kaip sausą kosulį gydanti, pasižyminti šlapimą varančiu, priešuždegiminiu poveikiu.

Šios žaliavos kaupia fenolinius junginius, kurie pasižymi oksidacinį stresą mažinančiomis savybėmis. Beržų lapai yra atsikosėjimą skatinanti augalinė žaliava, ji didina kosulio produktyvumą. Taip pat žaliavos pasižymi antiuždegiminiu poveikiu, todėl gydo kvėpavimo takų uždegimą. Šių žaliavų etanoliniai ekstraktai turi rusvą spalvą, kuri sirupą nudažo medaus spalva. Specifinis pankolio ekstrakto skonis bei kvapas suteikia sirupams malonių jauslinių savybių.

Sirupų vartojimas lengvas, juos paprasta nuryti bei dozuoti, todėl jie ypač tinkami vartoti senyviems žmonėms ir vaikams. Jis priimtinas dėl savo saldaus skonio, kuris maskuoja nemalonaus skonio medžiagas. Dėl koncentruoto cukraus sirupo ir sirupo sudėtyje esančio etanolio antimikrobinių savybių, jie ilgai išlieka stabilūs ir nepraranda savo jauslinių savybių bei veiksmingumo.

**Darbo ryšys su tyrimo metodika ir rezultatais.** Pasirinktų žaliavų ekstraktai turi fenolinių junginių, kurie pasižymi antioksidaciniu aktyvumu. Žmogaus organizme oksidacinio streso metu susidaro laisvieji radikalai, jie pažeidžia ląstelių baltymus, nukleorūgštis, lipidus, dažnai šie pažeidimų sukelti struktūros pakitimai yra negrįžtami. Organizmo ląstelės turi apsauginį mechanizmą skirtą apsaugoti nuo laisvųjų radikalų, tačiau jam išsekus oksidacinis stresas vis labiau žaloja ląsteles.

Laisvųjų radikalų susidarymą lemia gyvenimo būdas ir aplinkos veiksniai – oro, geriamojo vandens, dirvožemio tarša, natūrali ir žmogaus įtakota radiacija, pesticidai, tabako dūmai ir dar daug kitų veiksnių didina laisvųjų radikalų kiekius, mažina organizmo ląstelių gebą apsaugoti nuo laisvųjų radikalų pažaidų.

Manoma, kad oksidacinis stresas yra tiesiogiai susijęs su žmonių lėtinių ir ūminių ligų, tokių kaip širdies ir kraujagyslių ligų, uždegiminių, cukrinio diabeto, sergamumo didėjimu.



Augalinės žaliavos savo sudėtyje turi biologiškai aktyvių medžiagų - įvairių fenolinių junginių (flavonoidų, fenolinių rūgščių). Šios biologiškai aktyvios medžiagos yra antioksidaciniu aktyvumu pasižymintys junginiai, kurie dėl savo poveikio naudojami kaip natūralūs antioksidantai. Šie junginiai gali padėti gydyti ligas, kurios siejamos su oksidaciniu stresu.

Lietuvos rinkoje nėra sirupo, kuriame būtų įkomponuotos pasirinktos augalinės žaliavos – pankolių vaisiai, beržų lapai, našlaičių žolė. Dėl šios priežasties bei remiantis šių žaliavų indikacijomis, nuspręsta pagaminti vaistingą sirupą, kurio kiekinę sudėtį pasirinkti leistų pagamintų ekstraktų antioksidacinių savybių, bendro fenolinių junginių kiekio ir sauso likučio kiekio tyrimai.

## DARBO TIKSLAS IR UŽDAVINIAI

**Darbo tikslas:** Pagaminti vaistinį sirupą, į kurį įeina trispalvių našlaičių žolės, paprastųjų pankolių vaisių ir karpotųjų beržų lapų skystieji etanoliniai ekstraktai bei įvertinti jo kokybę ir stabilumą.

**Darbo uždaviniai:**

1. Remiantis analizuojamos mokslinės literatūros ir atliktų tyrimų duomenimis, parinkti racionalią ekstrahento (etanolio) koncentraciją.
2. Palyginti dviejų augalinių žaliavų ekstrahavimo metodų (perkoliacijos ir maceracijos) efektyvumą.
3. Pagaminti augalinių žaliavų skystuosius etanolinius ekstraktus, pagaminti paprastąjį sirupą; iš pagamintų ekstraktų sukombinuoti vaistingąjį sirupą.
4. Atlikti pagamintų skystųjų ekstraktų gravimetrinį ir spektrofotometrinį vertinimą.
5. Naudojant analizės metodus, atlikti pagamintų vaistingųjų sirupų kokybės ir stabilumo vertinimą.

# 1. LITERATŪROS APŽVALGA

## 1.1. Paprastasis pankolis (*Foeniculum vulgare* Mill.)

### 1.1.1. Paprastojo pankolio apibūdinimas

*Paprastasis pankolis* (*Foeniculum vulgare* Mill.) (Ph.Eur. 01/2008:0824) – dvimetis, geltonai žydintis augalas, priklausantis salierinių (*Apiaceae*) šeimai. Užauga iki 2,5 m., turi tuščiavidurį stiebą. Lapai plunksniški, iki 40 cm ilgio. Vaisiai subręsta skėčiuose, tai 4-10 mm ilgio sausos sėklos. Kai kurie autoriai išskiria du pankolio porūšius – *piperitum* ir *vulgare*. *Piperitum* porūšis subrandina karčias sėklas, o *vulgare* porūšis – saldžias sėklas, kurios yra naudojamos kaip aromatinė medžiaga maisto, gėrimų pramonėje dėl savo anyžinio kvapo. [1]

**Žaliava** – paprastojo pankolio išdžiovinti vaisiai (*Foeniculi dulcis fructus*) (Ph.Eur. 01/2008:0824). Eterinio aliejaus turi būti mažiausiai 20ml/kg žaliavos, jo sudėtyje anetolio mažiausiai 80%. Vaisiai yra šviesiai žalios ar gelsvai rudos spalvos, cilindro formos su apvaliu pagrindu, 3-12mm ilgio ir 3-4mm pločio. [2,3]

Žaliavos kokybinis nustatymas:

- estragolio ir fencho no nustatymas dujų chromatografija (estragolio ne daugiau 10% eteriniame aliejuje, fencho no ne daugiau 7,5%);
- priemaišos žaliavoje (ne daugiau 1,5%);
- drėgmės kiekis (ne daugiau 80 ml/kg, nustatoma dvidešimtyje gramų sutrintų lapų);
- sausas likutis (ne daugiau 10%);
- morfologinė žaliavos analizė;
- sutrintos į miltelius žaliavos chloralio hidrate, mikroskopinė analizė;
- plonasluoksnė chromatografija. [3]

Žaliavos kiekybinis nustatymas – eterinio aliejaus kiekio nustatymas, anetolio kiekio nustatymas dujų chromatografija. [3]

### 1.1.2. Paprastųjų pankolių vaisių cheminė sudėtis

Pankolio vaisių cheminė sudėtis – 6,3% drėgmės, 9,5% baltymų, 10% riebalų, 18,5% skaidulų, 42,3% angliavandenių. Turi kalcio, kalio, natrio, geležies, fosforo, tiamino, riboflavino, niacino, askorbo rūgšties, flavonoidų (rutino, kvercetino, izokvercetino). [1,2]

Eterinio aliejaus cheminė sudėtis –  $\alpha$ -pinenas, kamfenas,  $\beta$ -felandrenas,  $\beta$ -mircenas,  $\alpha$ -felandrenas, benzenas, limonenas, fencho nas (11%), kamparas, estragolis (5%), fenčilacetatas, trans-anetolis (apie 80%), apiolis. [2,4,5]

Pankolių vaisių etanolinio ekstrakto sudėtyje esantys junginiai (nustatyta matuojant su ugnies jonizaciniu detektoriumi): 53% linoleinė rūgštis, 5,4% palmitino rūgštis, 5,1% oleino rūgštis, 0,5% stigmast-5-en-3-olis, 0,5 % transc-anetolis, 0,4 % cis-anetolis, 0,2 % undekanas, 0,2 % metiloleatas, 0,1 % 4-hidroksi-4-metil-2-pentanonas. [6]

Paprastųjų pankolių vaisiuose yra gausu polifenolinių junginių. Rasta flavonoidų: įvairūs kvercetino, apigenino, kemferolio, rutino glikozidai (kverectin-3-arabinozidas, kemferol-3-arabinozidas), didžiąją polifenolinių junginių dalį užima rozmarino, chlorogeno rūgštys. Taip pat rasta fenolinių rūgščių (kofeino rūgštis įvairūs junginiai). [2,7]

### 1.1.3. Paprastųjų pankolių vaisių poveikis ir naudojimas

Paprastasis pankolis yra žinomas kaip aromatinis, prieskoninis ir medicininis augalas. Tai augalas, įtrauktas į Ajurvedos farmakopėją, plačiai vartojamas Indijos, Irano, Pakistano tradicinėje medicinoje. Jis vartojamas kaip diuretikas, skatinantis laktaciją augalas, vartojamas gydant virškinamojo trakto ligas, bei kvėpavimo takų ligas. Dėl meteorizmą mažinančių savybių, tradicinėje medicinoje naudojamas su laisvinamaisiais preparatais, turi spazmolitinių savybių. Pankolio vanduo turi panašių savybių kaip krapų ir anyžių vanduo, vartojamas vaikų vidurių pūtimui gydyti. Taip pat naudojamas maisto pramonėje, įeina į kosmetikos gaminių sudėtį. [1,2,8]

Paprastasis pankolis turi antioksidacinių, antivėžinių, citoprotekcinų, hepatoprotekcinų, hipoglikeminių ir estrogeninių savybių. Atlikta tyrimų, įrodančių, kad jis gerina atmintį bei mažina stresą. Jis vartojimas senėjimui stabdyti, alergijoms gydyti, pasižymi spazmolitiniu, antipiretiniu poveikiu. [2,5]

Įvairios studijos parodė, kad aromatinis aliejus, vandeniniai ir etanoliniai ekstraktai veikia į *E.coli*, *Bacillus megaterium*, *Staphylococcus aureus*, *Campylobacter jejuni*, *Helicobacter pylori*. Antimikrobiškai veikiančios medžiagos – dilapionalis ir skopoletinas. [1,2,9] Kitos studijos parodė, kad antibakterinį poveikį turi ir linoleinė rūgštis, 1,3-benzendiolis, oleinė rūgštis, 2,4-undekadienalis, 5-hidroksi-furanokumarinas. [10] Nustatyta, kad dėl pankolių vaisių antimikrobinių savybių, ekstraktas gali būti naudojamas kaip natūralus konservantas [11]

Buvo atlikti antivirusiniai tyrimai su pankolių vaisių eteriniu aliejumi ir DNR 1 tipo Herpes simplex virusais (HSV-1) bei RNR 3 tipo paragripo virusais (PI-3). Pankolių vaisių eterinis aliejus inhibavo šiuos virusus. [2]

Eterinis aliejus ir sėklų ekstraktas turėjo fungicidinių savybių prieš *Candida* grybelius ir mikobakterijas. 6 µl eterinio aliejaus dozė inhibuoja *Aspergillum niger*, *Aspergillum flavus*, *Fusarium graminearum*, *Fusarium moniliforme*. Vandeninis pankolių vaisių ekstraktas turėjo stipresnį antigrybelinį poveikį, negu grizeofulvinas. [1,2,12]

Eterinis aliejus ir acetoninis ekstraktas turi stiprų antioksidacinį poveikį. 100 µg vandeninių ir etanolinių ekstraktų 99,1 ir 77,5 % inhibavo peroksidaciją linoleinės rūgšties sistemoje, lyginant su tokoferoliu, kuris inhibavo 36,1%. [1,2] Pankolių vaisių ekstraktai turi antioksidacinių savybių dėl juose esančių polifenolinių junginių – kofeoilchininės rūgšties, rozmarinų rūgšties, kvercetino ir kemferolio glikozidų. [10,13]

Vartojant paprastojo pankolio vaisių metanolinį ekstraktą per burną, buvo pastebėtas gydomasis poveikis ūmioms ir poūmioms uždegiminėms ligoms ir IV tipo alerginėms reakcijoms. [1]

Pankolių vaisiai turi atsikosėjimą gerinantį, bronchų sekretą skystinantį poveikį, gerina sekreto pasišalinimą, atpalaiduoja spazmus. Šis poveikis nustatytas atliekant tyrimus su graužikais ir varlėmis. Anetolis turi atpalaiduojantį poveikį trachėjos raumenims, taip pat pastebėtas ir atpalaiduojantis poveikis skeleto raumenims. [2,14,15,16]

Atlikus tyrimus, pastebėtas eterinio aliejaus hepatoprotekcinis poveikis. Tyrimai atlikti su žiurkėmis, kurioms ūmus hepatotoksiškumas buvo sukeltas anglies tetrachloridu. Pankolių vaisių eterinio aliejaus vartojimas sumažino aspartato aminotransferazės (AST), alanino aminotransferazės (ALT), alkalino fosfatazės (ALP) ir bilirubino kiekius serume, lyginant su kontroline grupe. Manoma, kad *d*-limonenas ir  $\beta$ -mircenai lėmė hepatoprotekcinį poveikį. [2,17]

## 1.2. Karpotasis beržas (*Betula Pendula* Roth.)

### 1.2.1. Karpotojo beržo apibūdinimas

*Betulaceae* šeima turi 65 rūšis beržų. **Karpotasis beržas** (*Betula pendula* Roth.) (Ph. Eur. 07/2008:1174) yra dažniausiai sutinkama šios šeimos rūšis. Karpotasis beržas – iki 30m užaugantis vienastiebis ar daugiastiebis medis. Žievė švelni, viršutinėje dalyje balta, apatinėje dalyje juoda, sutrūkinėjusi. Senesniuose medžiuose toks fragmentas gali tęstis kelis metrus. Lapai be plaukelių, trikampio ar rombo formos. [18]

Beržo įvairios dalys jau nuo seno vartojamos tradicinėje medicinoje – žievė, lapai, pumpurai, sula, sultys. Jis vartojamas esant uždegimams, infekcijoms, odos ligoms, šlapimo sistemos sutrikimams. Beržo lapai įeina į diuretinius mišinius [19,20]. Pasižymi antioksidaciniu aktyvumu [21]. Ekstrakto dedama į balinamosios kosmetikos sudėtį, tyrimai parodė, kad beržo ekstraktas inhibuoja odos hiperpigmentaciją. [22] Kitame tyrime, kuriame dalyvavo moterys, buvo įrodytas augalinio preparato, į kurį įėjo beržų lapų sausasis ekstraktas, efektyvumas gydant celiulitą. Manoma, kad tai susiję su beržų lapų diuretinėmis savybėmis. [23]

**Augalinė žaliava** – beržo lapai (*Betulae folium*) (Ph. Eur. 07/2008:1174). Tai sveiki išdžiūvę karpotojo beržo (*Betula pendula* Roth.) ar/ir plaukuotojo beržo (*Betula pubescens* Ehrh.) arba kitų

hibridų lapai ar lapų dalys. Lapuose turi būti mažiausiai 1,5% flavonoidų, perskaičiuotų į hiperozidą. [3]

Lapų viršutinė pusė yra tamsiai žalia, apatinė pusė žaliai pilka. Gyslos šviesiai rudos ar beveik baltos. Lapai 3-7 cm ilgio, 2-5 cm pločio, trikampiški ar rombiški. [3]

Žaliavos kokybinis nustatymas:

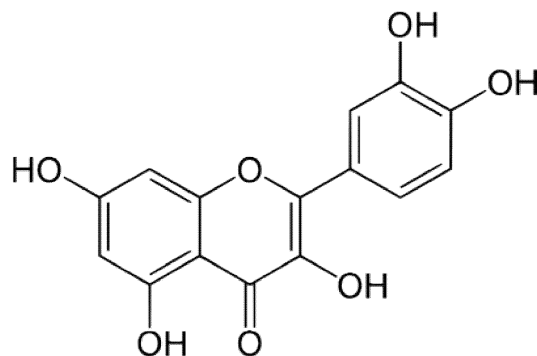
- priemaišos žaliavoje (leidžiama daugiausiai 3% žirginio ar kitų lapų);
- drėgmės kiekis (ne daugiau 10%, nustatoma 1 g žaliavos miltelių džiovinant džiovinimo krosnyje dvi valandas, esant 105°C);
- pelenų kiekis (ne daugiau 5%);
- plonasluoksnė chromatografija (1g medžiagos tirpinamas metanolyje, palyginamasis tirpalas – 1mg kofeino rūgšties, 1mg chlorogeninės rūgšties, 2,5mg hiperozido, 2,5mg rutino dešimtyje mililitrų metanolio);
- nesmulkintos žaliavos morfologinė analizė;
- sutrintos į miltelius žaliavos chloralio hidrate, mikroskopinė analizė. [3]

Žaliavos kiekybinis nustatymas – žaliavos tirpalo heksametilentetramino, acetono ir hidrochlorinės rūgšties mišinyje, absorbcijos ties 425 nm matavimas, flavonoidų kiekio perskaičiavimas į hiperozidą. [3,24]

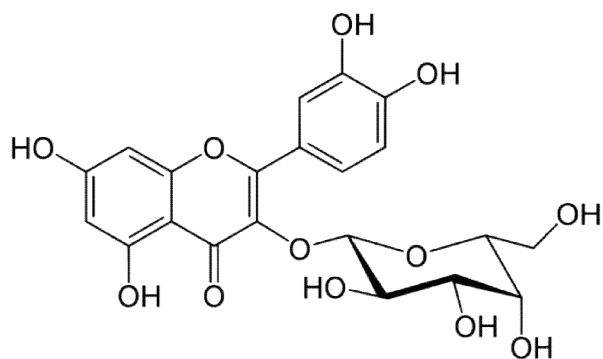
### 1.2.2. Karpotųjų beržų lapų cheminė sudėtis

Fitocheminiai tyrimai parodė, kad dažniausiai beržų lapuose randama fenolių, flavonoidų, taninų, saponinų, glikozidų, sterolių, terpeno darinių. [19,25]

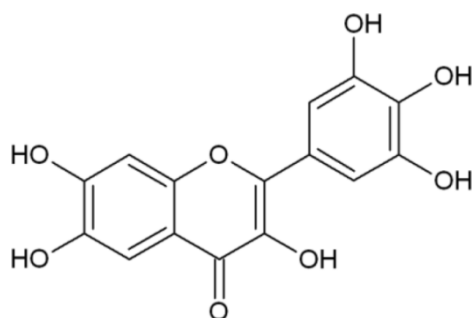
Beržo lapuose flavonoidų apie 3% - hiperozido (0,8%), kvercetino (0,14%), miricetino galaktozido (iki 0,37%) ir kitų kvercetino, kemferolio, miricetino glikozidų. Pagrindiniai beržų lapų flavonoidai kvercetinas, hiperozidas ir miricetinas pavaizduoti 1, 2 ir 3 pav. [25,26,27,28]



1 pav. Beržo lapų flavonoidas kvercetinas



**2 pav. Beržo lapų flavonoidas hiperozidas**



**3 pav. Beržo lapų flavonoidas miricetinas**

Senesniuose lapuose flavonoidų kiekis yra mažesnis nei jaunuose. [26,27,28]

Taip pat lapuose kaupiami (+)-katechinas, monoterpenų glikozidai, triterpenų alkoholiai ir damarino tipo esteriai Lapai turi kalio (4%). [26,27,29]

Tarp kitų fenolinių junginių taip pat randama 3,4'-dihidroksipropiofenono 3-gliukozido, kofeino rūgšties, chlorogeninės rūgšties, lignanų, diarilheptanoidų. Flavonoidų kiekis beržų lapuose gali svyruoti nuo 2,3% iki 3,5%. Flavonoidų aglikonai gali sudaryti iki 10% sauso sauso lapo svorio. Žaliava daugiausia kaupia polimerinius proantocianidinus (39mg/g sauso svorio). [26,27,29]

Buvo ištirtas beržo lapų vandenyje tirpių fenolių junginių kiekių svyravimas vegetacijos metu, esant įvairioms aplinkos sąlygoms. Ištirta, kad didžiausias fenolinių junginių kiekis būna pirmoje ir antroje gegužės pusėje, viduryje birželio jis mažėja, vėl didėja vėlyvą vasarą ir rudenį. [27] Atlikti tyrimai parodė, kad lapų ekstraktai pasižymi antioksidaciniu aktyvumu [21].

Lapuose taip pat rasta sunkiųjų metalų, tokių kaip manganas, geležis, švinas, kadmis, stroncis. Taip pat juose yra eterinio aliejaus (0,04-0,05%), kuriame randama betulolio, betulino rūgšties, naftalino, seskviterpenų. Randama vitaminų (iki 2-8%), tokių kaip askorbo rūgštis, nikotino rūgštis, karatinoidai ir pan. Kumarinai sudaro 0,44%, taninai 5-9%, saponinai iki 3,2%. [27]

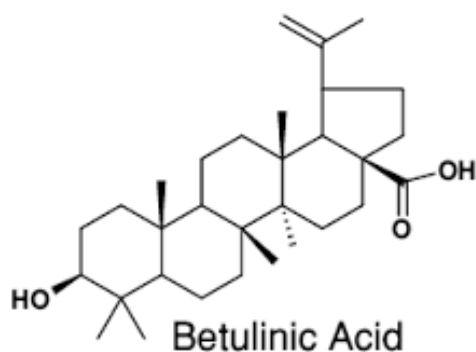
### 1.2.3. Karpotųjų beržų lapų poveikis

Tam tikri flavonoidai, pagrinde kvercetas ir kiti fenoliniai junginiai galimai atsakingi už šlapimo gamybos padidėjimą organizme. Atliktuose tyrimuose akvaretinis efektas koreliavo su flavonoidų kiekiu, bet nepastebėtas saluretinis efektas. Kalio nitratas, esantis beržų lapuose, gali didinti flavonoidų poveikį. Dėl didelio kalio kiekio lapuose, beržo lapų preparatai nesukelia kalio trūkumo, kurį sukelia kitos diuretinės medžiagos. Izoliuota flavonoidų frakcija turėjo žymiai mažesnę akvaretinį poveikį, negu lapų ekstraktas. Norint padidinti šlapimo išsiskyrimą, reikalinga minimali 50mg beržo lapų flavonoidų dozė per dieną. [27]

Beržų lapų fenoliniai junginiai, ypač flavonoidai, yra efektyvūs prieš gram teigiamas *Staphylococcus aureus* bakterijas, kaip ir pušies *Pinus sylvestris* L., bei valgomosios bulvės *Solanum tuberosum* L flavonoidai. Tyrėjai rekomenduoja ekstraktą naudoti kosmetikoje kaip antibakterinį agentą, esant jo koncentracijai 0,045%. [27]

Beržo lapuose ir pumpuruose esantis eterinis aliejus turi metilsalicilato, kuris turi antiuždegiminį ir analgetinį poveikį. Tačiau eterinių aliejų lapuose yra ypač mažas kiekis (0,04-0,05%), o pumpuruose didesnis – 3,5-6%. Beržų sultys, jas duodant žiurkėms dideliais kiekiais, turėjo silpną antiuždegiminį poveikį. Lyginant su acetilsalicilo rūgštimi, lapų ekstraktai turėjo silpną ir trumpą antipiretinį poveikį. [27]

Betulino rūgšties antivėžinės savybės siejamos su gebėjimu indukuoti apoptozinę vėžinių ląstelių mirtį, sukiant mitochondrinę apoptozę. Ši rūgštis pavaizduota 4pav.[30,31,32,33]



4 pav. *Betulino rūgštis*

. Betulino rūgštis veikia citotoksiškai prieš įvairias vėžio rūšis, o nevėžinės ląstelės ir audiniai yra sąlyginai atsparūs betulino rūgšties poveikiui. Keletas mokslinių tyrimų *in vitro* ir su graužikais ištyrė, kad betulino rūgštis padidina vėžinių ląstelių jautrumą chemoterapiniams preparatams, tokiems kaip vinkristinas, 5-fluoruracilas, irinotekanas, oksalilplatina. [30,31,32,33]



### 1.3. Trispalvė našlaitė (*Viola tricolor* L.)

#### 1.3.1. Trispalvės našlaitės apibūdinimas

*Trispalvė našlaitė* (*Viola tricolor* L.) (Ph. Eur. 01/2008:1855) priklauso *Violaceae* šeimai, kuri turi 500 našlaičių rūšių. Lietuvoje auga dvi medicininės našlaičių rūšys – trispalvė ir dirvinė. Trispalvė našlaitė – tai vienmetis augalas, užaugantis iki 40 cm aukščio. Stiebas briaunotas, gausiai šakotas. Lapai kiaušiniški arba ietiški, su dideliais prielapiais. Žiedai dažniausiai trijų spalvų, rečiau tik geltoni ar violetiniai, su ilgais žiedkočiais. Žiedai išauga iš lapų pažastų po vieną, rečiau po kelis. [26,34]

Trispalvė našlaitė – jau seniai liaudies medicinoje naudojamas augalas. Vartojama gydant kvėpavimo organų uždegimus – bronchitą, tracheitą, bronchinę astmą. Preparatai skatina atsikosėjimą. Trispalvės našlaitės preparatai naudojami gydyti nemigai, šlapimo ir tulžies išsiskyrimui skatinti, odos ligoms gydyti. [26,35]

Kai kurios trispalvės našlaitės indikacijos liaudies medicinoje yra patvirtintos moksliniais tyrimais – tai antigrybelinis, antihipertenzinis, antidislipideminis, antivėžinis poveikis bei analgezinis, antipiretinis, antiuždegiminis, antiastminis ir antioksidacinis poveikis. [36]

**Žaliava** – trispalvės našlaitės išdžiovinta žolė su žiedais (*Violae herba cum flore*), kurioje yra mažiausiai 1,5% flavonoidų, perskaičiuotų į violantiną. (Ph. Eur. 01/2008:1855) Stiebas kampuotas ir tuščiaviduris, lapai pražangiai išsidėstę, ovalūs, su prielapiais. Žiedai trispalviai, vaisius – dėžutė, 5-10 mm ilgio, geltonos, apie 1 mm ilgio sėklos. [3]

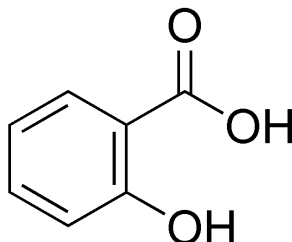
Žaliavos kokybinė analizė:

- priemaišos žaliavoje (ne daugiau 3%);
- brinkimo indeksas susmulkintai į miltelius žaliavai (ne mažiau 9);
- drėgmės netekimas (ne daugiau 12%, nustatant 1g sutrintos iki miltelių žaliavą 2 val. Džiovinant džiovinimo krosnyje, esant 105°C);
- sausas likutis (ne daugiau 15%);
- žaliavos morfologinė analizė;
- sutrintos į miltelius žaliavos chloralio hidrate, mikroskopinė analizė;
- plonasluoksnė chromatografija. [3]

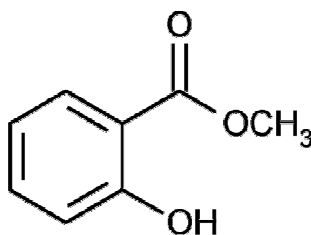
Žaliavos kiekybinė analizė – sutrinta žaliava dedama į etanolį, matuojama absorbcija prie 405nm, flavonoidų kiekis perskaičiuojamas violantiną. [3]

### 1.3.2. Trispalvių našlaičių žolės cheminė sudėtis

Trispalvių našlaičių žolė kaupia 0,3% salicilo rūgšties ir jos junginių, tokių kaip metilo esteris ir violutozidas. Salicilo rūgštis pavaizduota 5 pav., salicilinės rūgšties metilo esteris pavaizduotas 6 pav. [35,37]



5 pav. *Trispalvės našlaitės kaupiama salicilo rūgštis*



6 pav. *Trispalvės našlaitės kaupiamas salicilo rūgšties metilo esteris*

Trispalvių našlaičių žolė taip pat kaupia fenolines karboksirūgštis (trans-kofeino rūgštis, protokatechininė rūgštis, p-kumarininė rūgštis); 10% gleivių – susidariusių iš gliukozės (35%), galaktozės (33%), arabinozės (18%), ramnozės (8%); 2,4-4,5% taninų, flavonoidų (rutinas, violakvercitrinas, violantinas (pasižymintis raminančiu poveikiu), skoparinas, saponaretinas, orientinas, viceninas, antocianidiniai glikozidai); karotinoidus (violaksantinas ir jo keturi geometriniai izomerai, zeaksantinas); kumarinai (umbeliferonas); mažus kiekius saponinų; askorbo rūgšties ir tokoferolio. Pagrindiniai cheminės sudėties komponentai yra violantinas ir rutinas. [35,37]

Trispalvių našlaičių džiovintos žolės eteriniame aliejuje randami 24 junginiai. Tai daugiausia seskviterpenai, šikiminės rūgšties junginiai, monoterpenai. [36] Pagrindiniai junginiai – heksahidrofarnesilacetonas (4,06%), metilsalicilatas (1,22%),  $\beta$ -jononas (1,0 $\beta$ ). [38]

### 1.3.3. Trispalvių našlaičių žolės poveikis ir panaudojimas

Preparatai naudojami išoriškai ir į vidų. Medicininis poveikis siejamas su antioksidacinėmis savybėmis. Antioksidantai – molekulės, kurios neleidžia susidaryti laisviesiems radikalams. Dėl sudėtyje esančių flavonoidų ir kitų fenolinių junginių, trispalvė našlaitė yra natūralus antioksidantas. Gydo įvairias odos ligas – egzema, seborėją, paprastuosius spuogus, kokliušą, cistitą. Salicilatai ir rutinas žaliavoje veikia antiuždegimiškai. Vartojama skatinti atsikosėjimą. [35,39]

Buvo atliktas *in vitro* tyrimas su geliu, turinčiu trispalvės našlaitės ekstrakto. Žiurkėms buvo sukelti terminiai nudegimai, ant žaizdų užteptas gelis. Nustatyta, kad trispalvės našlaitės ekstraktas sukelia analgezinį poveikį, mažina uždegimą – mažina edemos formavimąsi, neutrofilų infiltraciją nudegimo vietoje. Manoma, kad šiuos poveikius sukėlė rutinas, salicilo rūgštis ir chlorogeninė rūgštis. [40]

### 1.4. Oksidacinis stresas ir antioksidantai

**Oksidacinis stresas** – procesas, kurio metu susidarę laisvieji radikalai pažeidžia organizmo ląsteles. Šis procesas siejamas su įvairiomis ligomis – ateroskleroze, hipertenzija, cukriniu diabetu, išeminėmis ligomis, piktybiniais augliais, uždegiminėmis ligomis ir daug kitų. [41,42,43]

**Reaktyvios deguonies formos** (ROS arba *reactive oxygen species*) – tai grupė oksidatorių, kurie gali būti laisvieji radikalai arba molekulės, iš kurių susidaro laisvieji radikalai. Normaliomis fiziologinėmis sąlygomis apie 2% organizmo suvartojamo deguonies yra verčiama į  $O_2^{\cdot-}$  mitochondrinio kvėpavimo, fagocitozės metu. ROS kiekis didėja esant organizmo infekcijoms, fizinio aktyvumo metu, esant teršalų, UV šviesos, jonizuojančios radiacijos poveikiui.  $NO^{\cdot}$  yra kraujagyslių endotelį atpalaiduojantis faktorius ir neurotransmiteris. [44,45]

$NO^{\cdot}$  ir  $O_2^{\cdot-}$  radikalai verčiami į stipriai oksiduojančius radikalus – hidroksilo radikalą ( $^{\cdot}OH$ ), alkoksi radikalą ( $RO^{\cdot}$ ), peroksilo radikalą ( $ROO^{\cdot}$ ). Kai kurie radikalai verčiami į molekulinis oksidatorius – vandenilio peroksidą ( $H_2O_2$ ), peroksinitritą ( $ONOO$ ), hipochloro rūgštį ( $HOCl$ ). Jie taip pat gali būti ROS šaltiniai. [44,43]

Maži ROS kiekiai yra reikalingi normalioms organizmo fiziologinėms funkcijoms – genų ekspresijai, ląstelių augimui, apsaugai nuo infekcijų. ROS taip pat tarnauja kaip antriniai signalo perdavėjai įvairiose vystymosi stadijose – manoma, kad ROS reguliuoja žinduolių embriono vystymąsi. Reaktyvios deguonies formos taip pat dalyvauja tiroksino, prostaglandino biosintezėje. ROS reikalingi imuninei sistemai – makrofagai ir neutrofilai reaktyvias formas gamina fagocitozės metu. [44,45]

ROS reaguoja su biomolekulėmis – lipidais, baltymais, DNR. Šių reakcijų metu gaminasi antriniai radikalai – lipidų, amino rūgščių, cukrų radikalai. Jie deguonies aplinkoje yra verčiami į

peroksilo radikalus. Ląstelių membranos yra jautrios ROS poveikiui, dėl jose esančio didelio kiekio nesočiųjų riebiųjų rūgščių ir lipidų. Sukeliama membranos lipidų peroksidacija, kurios metu susiformuoja lipidų hidroksiperoksidas (LOOH). Šios ląstelių membranų peroksidacijos pasekmės – membranų vientisumo pokyčiai. [44,45]

Su ROS sąveikaujant baltymams, jie peroksiduojasi, keičiasi ketvirtinė struktūra, vyksta degradacija, fragmentacija. Baltymų šoninių grandinių aminorūgštys, ypač triptofanas, cisteinas, metioninas, yra jautrios ROS poveikiui. Baltymų oksidacijos produktai dažniausiai yra aldehidai ir ketonai. Nors DNR yra stabilios ir apsaugotos molekulės, tačiau ROS gali pažeisti ir jas. Modifikuojamos DNR bazės, molekulės netenka purinų, pažeidžiamos deoksiribozės. DNR pažeidimo pasekmės yra genetinės medžiagos modifikacijos, kurios sukelia ląstelių mirtį, mutagenezę, karcinogenezę, skatina ląstelių senėjimą. [44,45]

Nekontroliuojamai besigaminantys ROS kaupiasi organizme ir sukelia oksidacinį ląstelių stresą. **Antioksidantai** – medžiagos, kurios užkerta kelią substrato oksidacijai. Jie mažomis koncentracijomis yra efektyvūs prieš ROS, kadangi yra elektronų donoriai. [44,46] Antioksidantai skirstomi į dvi grupes – fermentiniai antioksidantai ir nefermentiniai antioksidantai. Jie veikia trimis mechanizmais: a) stabdo reaktyvių formų formavimąsi (desferioksaminas); b) ardo reaktyvias formas (askorbo rūgštis, alfatokoferolis); c) atkuria pažeistas molekules (glutatonas). [44]

Nors ląstelės turi vidinius antioksidacinius mechanizmus, kartais to nebepakanka apsisaugoti nuo oksidacinio streso. Tokiu atveju reikalingi egzogeniniai antioksidantai, kurie atkuria ląstelių pusiausvyrą. Šiuo metu atlikti tyrimai, parodė, kad augaliniai produktai yra prisotinti antioksidantų. Augalų antioksidacines savybes lemia **fenolinės medžiagos**. Fenoliai yra antriniai augalų metabolitai. [43,44,46,47] Jie savo struktūroje turi aromatinį žiedą su 1 ar daugiau hidroksilo pakaitų. [48] Dėl šių grupių, fenoliniai junginiai yra efektyvūs prieš ROS. [44,49]

Fenolinės medžiagos yra: vitaminas E, flavonoidai, cinamono rūgšties junginiai, kurkuminas, kofeinas, katechinai, galo rūgšties dariniai, salicilo rūgšties dariniai, chlorogeninė rūgštis, resveratrolis, foliatai, antocianinai, taninai. Taip pat yra ir nefenolinių antrinių augalų metabolitų, kurie turi antioksidacinį aktyvumą – melatoninas, karotenoidai, retinolis, tioliai, jazminų rūgštis, alicinas. [44,49]

## 1.5. Augaliniai polifenoliniai junginiai

Polifenoliai yra antriniai augalų metabolitai. [44,46] Jie apsaugo augalus nuo UV spinduliuotės ir žalingų patogenų. Šiuo metu polifenoliai kelia mokslininkų susidomėjimą dėl savo savybių apsaugoti nuo kardiovaskulinių medžiagų, vėžinių darinių vystymosi, neurodegeneracinių

ligų ir daug kitų lėtinių bei ūminių ligų. [46,50] Atlikti tyrimai parodė, kad kurkuminas ir rozmarinų rūgštis yra efektyvūs gydant 2 tipo cukrinį diabetą [51].

Identifikuota daugiau nei 8000 augalinių polifenolinių junginių. Dažniausiai tai junginiai, susijungę su viena ar daugiau cukraus liekanų (polisacharidų ar monosacharidų) per hidroksilines grupes. Egzistuoja ir tiesioginis cukraus prisijungimas prie aromatinio žiedo. Kartais polifenoliai yra susijungę su karboksilinėmis ar organinėmis rūgštimis, aminais, lipidais ar kitais fenoliais. [46]

Polifenoliai pagal savo struktūrą ir fenolinių žiedų skaičių yra skirstomi į 4 pagrindines klases – a) fenolinės rūgštys, kurios sudaro trečdalį visų polifenolių (kofeino, galo, ferulinė rūgštis); b) flavonoidai (miricetinas, kvercetinas); c) stilbenai (resveratrolis); d) lignanai (sekoizolaricirezinolis). Flavonoidai dar skirstomi į: flavonolius, flavonus, flavanonus, flavanolius, antocianinus ir izoflavonus. [46]

Pastebėta, kad polifenolių kiekis didėja pažeistose augalo vietose, taip pat užsikrėtus infekcijomis. Manoma, kad augalai polifenolinius junginius gamina kaip antimikrobines medžiagas. Epidemiologinės studijos parodė ryšį tarp lėtinių ligų ir polifenolinių junginių suvartojimo. Polifenolinių junginių turinti mityba didina organizmo antioksidacinį atsparumą ir apsaugo nuo oksidacinio streso sukeltų degeneracinių ligų. [46,52]

## **1.6. Sirupai (*Sirupus*)**

### **1.6.1. Sirupų apibūdinimas ir privalumai**

Sirupai pagal Europos farmakopėjos apibrėžimą yra vandeniniai preparatai, turintys saldų skonį ir klampią konsistenciją. Sirupuose cukraus gali būti mažiausiai 45 % (m/m). [3]

Sirupai yra koncentruoti vandeniniai cukraus ar cukraus pakaitalų preparatai, kuriuose gali būti skonį gerinančių medžiagų ir medicininių medžiagų. Sirupai, turintys skonį suteikiančių medžiagų vadinami nevaistingieji arba paskaninti sirupai. Šie sirupai tarnauja kaip malonų skonį suteikiantys nešikliai medicininiams medžiagoms. Jie gali būti dedami į ektemporalinių preparatų sudėtį arba į vaistingąjį sirupą, kuriame yra veiklioji medžiaga. Kai kurie vaikai ir senyvi žmonės nesugeba nuryti kietų vaistų formų, todėl dažnai vaistinėms yra prašoma pagaminti sirupą iš vaistinių medžiagų, kurios yra gaminamos tik kaip tabletės ir kapsulės. [53]

Vaistingieji sirupai yra gaminami pramoniniu būdu, derinant individualius sirupo komponentus – cukrų, išgrynintą vandenį, skonį gerinančias medžiagas, spalvą suteikiančias medžiagas, veikliąsias medžiagas ir kitus komponentus. Vaistingieji sirupai naudojami dėl juose esančių veikliųjų medžiagų. [53]

Sirupai palengvina nepriimtino skonio medžiagų vartojimą, kadangi suteikia malonų skonį. Prarijus sirupą, tik dalis ištirpusio vaisto kontaktuoja su skonio svogūneliais, kita dalis vaisto pro juos į

gerklę pranešama klampaus sirupo. Toks skonio maskavimas neįmanomas, kai veiklioji medžiaga yra vandeniniame, neklampiam skystyje. [53]

Klampus, saldus sirupas turi raminamąjį efektą sudirgintiems gerklės audiniams. Tai efektyvi vaisto forma vaikams, kai vaikas atsisako kitų vaisto formų dėl jų nemalonaus skonio, taip pat jeigu vaikams sunku nuryti kietas vaisto formas. Išvengiama kietų vaisto formų laužymo, trynimo, oro sąlyčio su perlaužta kieta vaisto forma, maišymo su skysčiais (maišant su pienu tetraciklino grupės vaistus, vyksta sąveika, maišant vaistą su sultimis, gali įvykti vaisto skilimas dėl pasikeitusio pH). [53]

Bet kuri vandenyje tirpi vaistinė medžiaga gali būti dedama į skonį turintį sirupą. Tačiau svarbu, kad veiklioji medžiaga derėtų su kitais sirupo komponentais, neįvyktų sąveikos. Sirupai būna rūgštinės, neutralios, silpnai bazinės terpės, todėl veikliajai medžiagai galima parinkti tinkamos terpės sirupą, kur medžiaga bus stabili. [53]

### 1.6.2. Sirupų pagalbinės medžiagos

Cukrus yra dažniausiai sirupų gamybai naudojama medžiaga. Tam tikrais atvejais, ji gali būti visiškai ar dalinai pakeista tokiomis medžiagomis kaip sorbitolis, glicerinas, propileno glikolis. Šio smedžiagos neleidžia sirupui kristalizuotis, modifikuoja veikliųjų medžiagų tirpumą, sirupo skonį. [54]

Kartais glikogeninės medžiagos (jos organizme yra paverčiamos į gliukozę), gali būti pakeistos neglikogeninėmis medžiagomis, tokiomis kaip metilceliuliozė, hidroksimetilceliuliozė. Šios dvi medžiagos nėra hidrolizuojamos ir nepatenka į kraują, iš jų gaunami geri sirupai-nešikliai. Šių medžiagų sirupai su veikliosiomis medžiagomis yra tinkami diabetu sergantiems pacientams, taip pat tiems, kurių maiste negali būti glikogeninių medžiagų. Sirupo klampumas naudojant celiuliozės darinius yra toks pat kaip ir cukraus sirupo, pridėjus natūralių ar dirbtinių saldiklių (sorbitolis, aspartamas), skonis taip pat gaunamas panašus. [53,54]

Praskiestas cukraus tirpalas yra gera mitybinė terpė mikroorganizmams augti, ypač pelėsiams. Koncentruotas cukraus tirpalas yra atsparus mikroorganizmų augimui, kadangi jame mažai vandens, reikalingo jiems augti. Tačiau per daug prisotintas cukraus tirpalas po tam tikro laiko susicukruos – kai kurios cukraus molekulės kristalizuosis ir sudarys branduolį grandininėms reakcijoms. Todėl svarbu parinkti tinkamą cukraus kiekį, kuriame neaugtų mikroorganizmai ir jis nesicukruotų, arba tam į sirupus pridėti konservantų. [53]

Antimikrobinių konservantų kiekis priklauso nuo vandens kiekio sirupe, kuriame auga mikroorganizmai, bei nuo konservantų prigimties, savybių, antimikrobino poveikio stiprumo. Daugelis skonį suteikiančių eterinių aliejų turi antimikrobinį poveikį. Dažniausi antimikrobiniai konservantai yra: benzoinė rūgštis 0,1-0,2 %, natrio benzoatas 0,1-0,2%, [55] įvairios kombinacijos metilparabenu, propilparabenu, butilparabenu (bendrai apie 0,1%), įvairių koncentracijų etanolis. Dažnai sirupuose naudojamas alkoholis, norint pagerinti alkoholyje tirpių medžiagų tirpumą, tačiau galutiniame

produkte jo nebūna tokio kiekio, kad jis būtų laikomas konservantu (15-20%). [53] Į sirupus dedama antioksidantų –  $\alpha$ -tokoferolio acetato, askorbo rūgšties, cisteino hidroklorido, acetilcisteino, tiošlapalo. [56]

Dauguma sirupų yra paskaninami sintetinėmis skonį suteikiančiomis medžiagomis ar natūraliomis medžiagomis, tokiomis kaip lakūs aliejai (apelsinų aliejus), vanilinas. Kadangi sirupai yra vandeniniai preparatai, šios medžiagos turi būti tirpios vandenyje. Kartais dedama nedidelis kiekis alkoholio, kad mažai vandenyje tirpios medžiagos geriau tirptų. [53]

Padidinti sirupo priimtinumą pacientui, naudojamos dažomosios medžiagos, kurios asocijuojasi su skonį suteikiančiomis medžiagomis (pvz., žalia spalva su mėtomis, ruda su šokoladu ir pan.). [53] Tartrazinas suteikia citrinos geltonumo spalvą, saulėlydžio geltonasis – oranžinę, karmoizinas – raudoną, ponceau – šviesiai raudoną, allura raudonasis – raudoną, amarantas – purpurinę. [57] Dažomosios medžiagos turi būti tirpios vandenyje, nereaguoti su kitais sirupo komponentais, spalva turi būti stabili esant tam tikram pH, esant saulės poveikiui. [53]

### 1.6.3. Sirupų gamyba

Sirupų gaminimas priklauso nuo jo sudėtinių dalių fizinių ir cheminių savybių. Dažniausiai gaminama šiais keturiais būdais: a) komponentų tirpinimas šildant; b) komponentų tirpinimas maišant be šildymo, arba paprastas skystų komponentų sumaišymas; c) cukraus pridėjimas į paruoštą vaistingą skystį ar paskanintą skystį; d) cukraus perkoliacija. Kartais sirupai ruošiami naudojant daugiau nei vieną būdą. [53]

Sirupai ruošiami tirpinant šildymo būdu, kai norima greit pagaminti sirupą, jeigu sirupo komponentai neskyla veikiami šilumos. Cukrus tiesiog dedamas į išgrynintą vandenį ir šildoma, kol ištirps. Tada kiti karščiui atsparūs komponentai dedami į karštą sirupą, mišiniui leidžiama atvėsti, pamatuojamas tūris ir pridedama išgryninto vandens iki reikiamo tūrio. Jeigu reikia pridėti karščiui neatsparių ir lakių medžiagų, pavyzdžiui, aliejų ar alkoholių, jie yra dedami į atvėsintą iki kambario temperatūros tirpalą. [53]

Cukraus tirpalo negalima perkaitinti, nes cukrus (disacharidas) gali hidrolizuotis į monosacharidus, gliukozę ir fruktozę. Ši hidrolitinė reakcija vadinama inversija, dviejų monosacharidų kombinuotas produktas yra invertuotas cukrus. Kai cukraus tirpalas veikiamas karščiu, visada šiek tiek vyksta sacharozės inversija. Inversijos greitis didėja esant rūgštims, vandenilio jonas atlieka katalizatoriaus vaidmenį. Įvykus inversijai, pakinta sirupo saldumas, nes invertuotas cukrus yra saldesnis nei sacharozė. Taip pat kinta sirupo spalva, normaliai bespalvis sirupas tamsėja dėl karščio poveikio fruktozei. [53]

Kai sirupas stipriai perkaitinamas, jis tampa gintaro spalvos, nes sacharozė karamelizuojasi. Tokiame sirupe greičiau auga mikroorganizmai. Dėl karščio neigiamo poveikio sirupui negali būti

sterilizuojami autoklavais. Virinto išgryninto vandens naudojimas ruošiant sirupą, konservantai, sandarūs laikymo indai gali padėti išsaugoti stabilumą laikymo metu. [53]

#### 1.6.4. Sirupų kokybės vertinimas

Sirupų kokybė nustatoma įvertinant išvaizdą (specifinė spalva), skonį ir kvapą (specifiniai), konsistenciją, nustačius tam sirupui specifinį tankį ir lūžio rodiklį, pH.

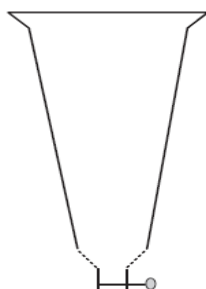
Paprastojo sirupo standartizavimas: įvertinama sirupo išvaizda – jis turi būti skaidrus, bespalvis ar silpnai gelsvos spalvos tirštas skystis, skonis – saldus, kvapas – bekvapis. Nustatomas tankis (1,301-1,313), matuojamas lūžio rodiklis (1,451-1,454), terpė (neutrali). [3]

### 1.7. Ekstrakcija

*Augalinių žaliavų ekstrakcijos* terminas apibrėžiamas kaip augalo mediciniškai aktyvių junginių atskyrimas nuo neaktyvių ar inertiškų augalinės žaliavos komponentų, naudojant selektyvius tirpiklius ir standartines procedūras. Iš augalinių žaliavų išgauti produktai yra santykinai užteršti, todėl skirti tik išoriniam naudojimui arba vartojimui *per os*. Tokie produktai žinomi kaip nuovirai, užpilai, skysti ekstraktai, tinktūros, tiršti ir sausi ekstraktai. Tokie preparatai dar vadinami galeniniai. [58]

*Maceracija, perkoliacija ir užpilimas* yra dažniausiai galeninių preparatų gamyboje naudojamos technikos. Šios ekstrakcijos procedūros minimos oficialiose ir neoficialiose vaistinių preparatų formuluočių monografijose. Šiais metodais išgauti skysti ekstraktai toliau naudojami tirštų ar sausų ekstraktų gamyboje. Šie ekstraktai dažnai naudojami kaip medžiagos įeinančios į modernius preparatus. [58]

Perkoliacijos metodas dažniausiai naudojamas išekstrahuoti aktyvius komponentus tinktūros ar skysto ekstrakto forma. Metodas naudoja perkoliatorių – siaurėjantį kūgio formos indą, kuris pavaizduotas 7 pav. [58]



7 pav. *Perkoliatorius* [60]



Žaliavos sudrėkinamos reikiamu kiekiu tirpiklio ir paliekamas brinkti sandariai uždarytame inde 2-4val. (priklausomai nuo žaliavos). Išbrinkusi žaliava perkeliama į perkoliatorių ir laikoma 24-48 val. Po to, perkoliatas leidžiamas lašėti atidarius perkolatoriaus sklendę, į perkoliatorių vis pilant likusį tirpiklį. [58]

Vykdant ekstrakciją, labai svarbus laiko parametras. Jei ekstrahuojama per trumpai, neįvyksta pilna ekstrakcija. Jei ekstrakcija vyksta per ilgai, gali išsiekstrahuoti nepageidaujami junginiai. [58]

Maceracija yra nedinamiška ekstrakcija. Pagrindiniai šio proceso žingsniai yra susmulkintos augalinės žaliavos patalpinimas į uždarą indą ir pasirinkto tirpiklio pridėjimas. Indas paliekamas stovėti 7 dienas, karts nuo karto sukratant. [58]

## 2. TYRIMO METODIKA IR METODAI

### 2.1. Medžiagos ir prietaisai

#### Tirpikliai:

1. Distiliuotas vanduo.
2. Etanolis 96% V/V (AB „Stumbras“, Lietuva).

#### Reagentai:

1. DPPH· – 2,2- difenil-1-pikrilhidrazil hidratas (Sigma-Aldrich, JAV).
2. Folin-Ciocalteu reagentas (Sigma, Šveicarija).
3. Natrio karbonatas ( $\text{Na}_2\text{CO}_3$ ) (Merck, Vokietija).

#### Standartinės medžiagos:

1. Galo rūgštis 2 mg/25 ml (metanolinis tirpalas) (Sigma, Vokietija).

#### Medžiagos gamybai:

1. Cukrus (AB „Nordic Sugar Kėdainiai“, Lietuva).
2. Beržų lapai (Dr.P. Karvelis „Beržų lapai“, Lietuva).
3. Našlaičių žolė (Pr.P Karvelis „Našlaičių žolė“, Lietuva).
4. Pankolių vaisiai (Dr. P. Karvelis „Pankolių vaisiai“, Lietuva).

#### Prietaisai:

1. Drėgnomatis MLS 50-3HA160 (Vokietija).
2. Spektrofotometras Agilent 8453 UV-VIS (Agilent Technologies Inc., Santa Clara, JAV).
3. Viskoziometras Sine – wave Vibro Viscometer SV – 10 (A&D Company ltd., Japonija).
4. Refraktometras (IRF-454B (ИРФ-454Б), Kazan Optical-mechanical Plant, Rusija).

Tyrimui naudotos trys augalinės žaliavos: pankolių vaisiai, beržų lapai, našlaičių žolė, standartizuotos pagal Europos Farmakopėjos (Ph. Eur.) reikalavimus.

## **2.2. Pankolių vaisių, beržų lapų, našlaičių žolės skystųjų ekstraktų gamyba maceracijos ir perkoliacijos būdu**

### **2.2.1. Ekstraktų gamyba**

Ekstraktai gaminami santykiu 1:1 (iš 1 dalies žaliavos gaunama 1 dalis ekstrakto). Naudojamos džiovintos augalinės žaliavos. Ekstrahuojama 25g našlaičių žolės, pankolių vaisių ir beržų lapų, iš kurių gaunama 25ml ekstrakto.

Pankolio vaisiai užpilami 5 kartus didesniu kiekiu ekstrahento (40, 50, 60, 70% (v/v) etanoliniai tirpalai), t.y. 125ml. Našlaitės žolė ir beržų lapai, dėl didesnio brinkimo koeficiento, užpilami 7 kartais didesniu ekstrahento kiekiu (175 ml).

#### **2.2.1.1. Perkoliacija**

Atsveriami 25g žaliavos ir supilama į porcelianinę lėkštelę, užpilama dalimi atmatuoto etanolinio tirpalo (30, 40, 50, 60 ir 70% (v/v)). Lėkštelė uždengiama ir brinkinama 2 valandas. Išbrinkinta žaliava pakraunama į perkoliatorių. Žaliava suspaudžiama, kad neliktų oro tarpų. Supilamas likęs etanolio tirpalas (susidaro veidrodis). Uždengus perkoliatorių, atsukamas čiaupas, nuleidžiamas ekstrahentas, iki kol bėgs lygia srovele (neliks oro tarpų).

Po 24 val. surenkamos 85 dalys ekstrakto (21ml). Likusi ekstrakto dalis koncentruojama iki 15 dalių (4ml). Po to, 85 ir 15 dalių sumaišoma, pamatuojamas ekstrakto tūris – esant tūrio trūkumui iki 25ml, papildomai įpilama tos koncentracijos etanolio, kokiu buvo ekstrahuota žaliava.

#### **2.2.1.2. Maceracija**

Atsveriami 25g sausos žaliavos ir suberiama į stiklinį indą. Užpilama etanoliniu tirpalu (30, 40, 50, 60, 70% (v/v)), paliekama 2 valandoms išbrinkti. Indas uždaromas ir paliekamas ekstrahuotis 7 dienoms, kasdien indas sukrotomas. Po 7 dienų, žaliava nusunkiama, koncentruojama iki 25 dalių (25ml).

Išekstrahavus visas žaliavas skirtingais etanoliniais tirpalais, gauti 24 ekstraktai, kurie pateikti 1 lentelėje.

**1 lentelė. Pagaminti ekstraktai\***

Ekstrahavimo būdas	Žaliava		
	Našlaičių žolė	Pankolių vaisiai	Beržų lapai
Perkoliacija	40%	40%	40%
	50%	50%	50%
	60%	60%	60%
	70%	70%	70%
Maceracija	40%	40%	40%
	50%	50%	50%
	60%	60%	60%
	70%	70%	70%

\*-Kiekvieno ekstrakto gamintos 5 serijos (n=5)

Etanoliniai tirpalai gaminti v/v

## 2.3. Sirupų gamyba

### 2.3.1. Sirupų receptūra

Sudarytos šešios sirupų receptūros, į juos visus įkomponuojant kiekvienos žaliavos ekstraktą. Sirupų sudėtys pateiktos 2 lentelėje.

**2 lentelė. Pagamintų sirupų sudėtys\***

Ekstraktas	Sirupų sudėtis, g					
	S1	S2	S3	S4	S5	S6
Našlaičių žolės ekstraktas	5	10	1	1	3	3
Pankolių vaisių ekstraktas	1	3	5	10	2	2
Beržų lapų ekstraktas	2	2	2	2	5	10
Cukraus sirupas	90	83	90	85	86	83
Etanolis 90%	2	2	2	2	2	2

\*-Kiekvieno sirupo gamintos 5 serijos (n=5)

S1-S6 reiškia sirupo numerį.

Ekstraktai parinkti nustačius optimalią etanolinio tirpalo koncentraciją kiekvienai žaliavai. Pasirinkti našlaičių žolės, pankolių vaisių, beržų lapų ekstraktai, ekstrahuoti 50% (v/v) etanoliniu tirpalu. Atlikus tyrimus ir įvertinus ekstrahavimo metodų efektyvumą, pasirinkti ekstraktai gaminti perkoliacijos metodu.

Kiekvieno sirupo sudėtyje yra vyraujantis ekstraktas. S1 ir S2 sirupuose vyrauja našlaičių žolės ekstraktas, S3 ir S4 – pankolių vaisių ekstraktas, S5 ir S6 – beržų lapų ekstraktas.

**Sirupo sudėtinės dalys:** našlaičių žolės, pankolių vaisių, beržų lapų ekstraktai (veiklioji dalis), paprastas 64% sirupas (farmacinės formos pagrindas), etanolis 90% (konservantas).

### 2.3.2. Paprastojo sirupo gamyba

Paprastasis sirupas gaminamas karštuoju metodu. Gaminama 1000g 64% koncentracijos paprastojo cukraus sirupo. Atsveriami 640g cukraus ir 360g distiliuoto vandens. Cukrus tirpinamas distiliuotame vandenyje lėkštelėje ir maišant šildomas iki virimo uždėjus ant vandens vonelės. Virinama 3-5 min. Karštas cukraus sirupas perkošiamas pro trigubą marlės sluoksnį. Pagamintas cukraus sirupas yra bespalvis, skaidrus, saldaus skonio, bekvapis, tirštas skystis. Atvėšęs cukraus sirupas supilstomas į stiklinius buteliukus. Laikomas sausai, tamsioje, vėsioje vietoje.

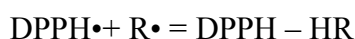
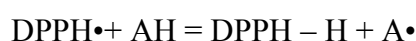
## 2.4. Analizės metodai

### 2.4.1. Sauso likučio kiekio nustatymas

Tyrimui imta po 2 ml kiekvieno ekstrakto. Ekstraktas užpilamas ant lėkštelės, uždėjus foliją. Skystasis ekstraktas pirmiausia nugarinamas iki tirštos masės džiovavimo spintoje. Tada sausas likutis nustatytas drėgnomačiu MLS 50-3HA160 (esant 105°C temperatūrai). Daryti penki bandymo pakartojimai, skaičiuotas rezultatų vidurkis.

### 2.4.2. Antioksidacinio aktyvumo nustatymas DPPH·(2,2-difenil-1-pikrilhidrazilo) laisvuojų radikalų

Ekstraktų ir sirupų veikliųjų medžiagų antioksidaciniam aktyvumui įvertinti naudojamas laisvojo radikalo DPPH· (2,2-difenil-1-pikrilhidrazilas) tirpalas. DPPH tirpalas iš violetinės spalvos pereina į geltoną, kai reaguoja su antioksidantais. DPPH laisvasis radikalas redukuojasi prisijungdamas protoną. Toks tirpalas neabsorbuoja 515-517 nm bangos ilgio šviesos. Reakcija pavaizduota žemiau: [59,60]



Kur: AH – antioksidantas

DPPH - 2,2-difenil-1-pikrilhidrazilas

R• - laisvasis radikalas

Spektrofotometriškai tiriami paruošti sirupų ir ekstraktų tirpalai. Jie ruošiami: 0,1 ml ekstrakto ar sirupo filtruojama švirkštiniu filtru, po to skiedžiama 20 kartų (įpilama 1,9 ml 96% (v/v) etanolio). Šio tirpalo imama 0,1 ml, pilama į 1 cm kiuvetę. Į kiekvieną kiuvetę pilama 2,9 ml 0,1 mmol/konc. laisvojo radikalo tirpalo (96% etanolinis DPPH tirpalas). Tirpalai kiuvetėse sumaišomi, jie paliekami uždengus 30m. Spektrofotometru matavimai atliekami esant 518 nm bangos ilgiui, palyginamasis tirpalas - 96% etanolis. [60,61]

Kiekvienam ekstraktui ir sirupui paruošta po 5 mėginius. Vedamas rezultatų aritmetinis vidurkis. Rezultatai apskaičiuoti remiantis formule (1):

$$DPPH_{inaktyvinimas} = \frac{Ab - Aa}{Ab} * 100\%$$

kur: Ab – standartinio tirpalo absorbcija (gryno DPPH tirpalo optinis tankis);

Aa – tiriamojo tirpalo absorbcija;

DPPH inaktyvinimas – inaktyvuoto DPPH kiekis procentais. [62,63]

### 2.4.3. Bendro fenolinių junginių kiekio nustatymas spektrofotometriniu metodu

Paruoštas tiriamasis ekstraktas ar sirupas veikiamas Folin – Ciocalteu reagentu ir natrio karbonato tirpalu. Standartu naudojama galo rūgštis, todėl bendras fenolinių junginių kiekis išreiškiamas mg/ml GRE (galo rūgšties ekvivalentas). [61]

0,5 ml tiriamojo ekstrakto praskiedžiama iki 25ml atitinkamos koncentracijos etanoliniu tirpalu. Tiriant sirupus, 1ml tiriamojo sirupo praskiedžiama 10ml 30% koncentracijos etanoliniu tirpalu. Jei iškrenta nuosėdos, tirpalai filtruojami. Į 0,5ml praskiesto sirupo ar ekstrakto pilama 2,5 ml Folin-Ciocalteu reagento (1:10) ir 2 ml 7,5% Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> tirpalo. [62] Kiekvienam ekstraktui ir sirupui tiriamos 5 serijos. Tirpalai paliekami 30 min, iki kol pasikeičia spalva (iki šviesiai ar tamsiai mėlynos spalvos). Bandinių matavimai atliekami spektrofotometru Agilent 8453 UV-Vis(Agilent Technologies Inc., Santa Clara, JAV), esant 765nm bangos ilgiui. Lyginamuoju tirpalu imamas 30% (v/v) etanolis. Vedamas aritmetinis vidurkis iš kiekvieno ekstrakto ar sirupo 5 serijų rezultatų. [61]

#### 2.4.4. Klamos nustatymas sirupuose

Sirupų dinaminė klampa nustatyta viskozimetru Sine-wave Vibro Viscometer SV-10. 50 g tiriamojo sirupo įpilama į matavimui skirtą indą. Indas pastatomas ant prietaiso darbinio paviršiaus. Matuota 100 aps./min greičiu. Matavimo proceso trukmė – 1 minutė, naudotas sukliis R7. Tyrimas atliktas kambario temperatūroje ( $25\pm 2$  °C). Vedamas aritmetinis vidurkis iš 5 mėginių rezultatų.

#### 2.4.5. Sirupų lūžio rodiklio nustatymas

Stabilumo tyrimo metu refraktometriškai nustatytas sirupų lūžio rodiklis. Ant refraktometro stiklinio paviršiaus užlašinama tiriamojo sirupo. Matavimas atliekamas 20°C temperatūroje. Vedamas aritmetinis vidurkis iš 5 mėginių rezultatų.

#### 2.4.6. Sirupų juslinių savybių įvertinimas

Sirupų juslines savybes įvertinau pati, remdamasi literatūra.

**Spalvos įvertinimas.** 5ml pagaminto sirupo supilta į skaidrią stiklinėlę ir pastatyta ant balto popieriaus lapo, esant dienos šviesos apšvietimui.

**Kvapo įvertinimas.** Kiekvieno pagaminto sirupo 2ml įvertinti uoslės pagalba. Laiko intervalas tarp kiekvieno sirupo kvapo vertinimo yra 2 minutės.

**Skonio įvertinimas.** Ragauta po 0,5ml kiekvieno sirupo su 2 minučių pertrauka tarp kiekvieno ragavimo.

**Konsistencijos įvertinimas.** Ragauta po 0,5 ml kiekvieno sirupo. [62]

#### 2.4.7. Sirupų stabilumo stebėjimas

Cukraus sirupo penkių bandomųjų serijų stabilumas buvo tirtas laikant  $25\pm 2$  °C temperatūroje, esant  $60\pm 5\%$  santykinei drėgmei, tamsioje, gerai vėdinamoje vietoje.

Buvo stebimi šie kriterijai: nuosėdų susidarymas, cukraus sirupo kristalizacija, drumstumas, fiksuotas antioksidacinis kitimas, klamos ir lūžio rodikliai. Analizė atlikta po 1, 3, 6, 18 ir 24 mėnesių.

#### 2.4.8. Statistinė analizė

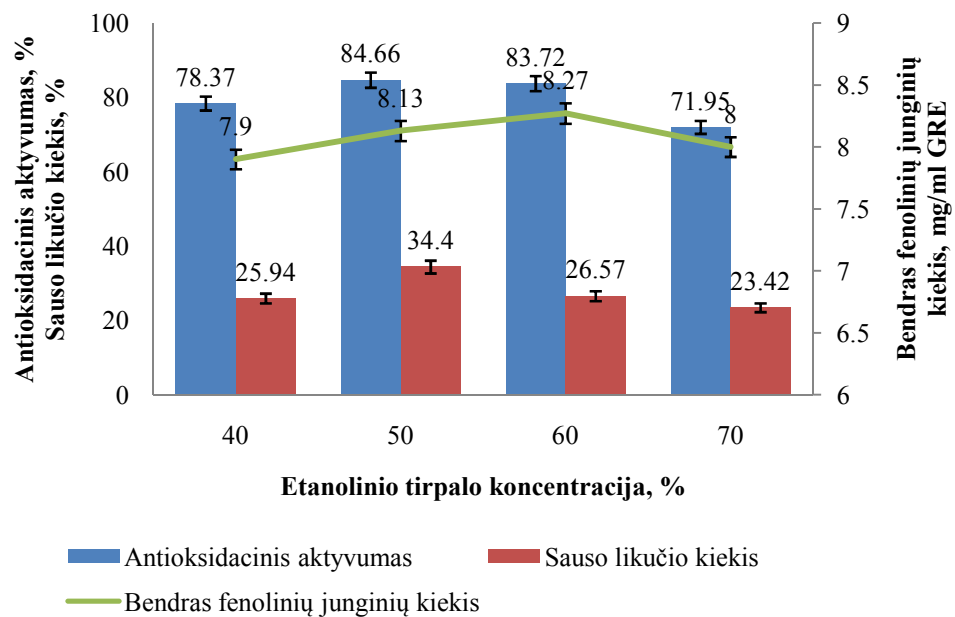
Gautų duomenų statistinė analizė atlikta *MS Office Excel 2007* ir *Sigma Plot 12.0* statistine programa. Tyrimo duomenys yra patikimi, jei  $p < 0,05$ .

### 3. REZULTATAI IR JŲ APTARIMAS

#### 3.1. Skystųjų ekstraktų sauso likučio kiekis, antioksidacinis aktyvumas ir bendras fenolinių junginių kiekis

*Beržų lapų ekstraktų tyrimas.* Iš visų žaliavų ekstraktų, didžiausią nuodžiūvį po ekstrakcijos turėjo beržo ekstraktai – išekstrahavus pastebėta dervingų medžiagų nusistovėjimas buteliuko dugne. Didesnis sausas likutis rodo išiekstrahavusį didesnį fenolinių junginių kiekį. Didžiausias sausas likutis buvo esant 50% ekstrahentui ( $34,4 \pm 1,72\%$  perkoliacijos metodu ir  $28,24 \pm 1,13\%$  maceracijos metodu). Mažiausias sausas likutis nustatytas ekstrahavus ekstraktus 70% etanoliniu tirpalu -  $23,42 \pm 1,17\%$  naudojant perkoliacijos metodą ir  $18,42 \pm 0,74\%$  naudojant maceracijos metodą. Žaliavas ekstrahuojant maceracijos metodu, nustatytas mažesnis sausas likutis, negu jas ekstrahuojant perkoliacijos metodu ( $p < 0,05$ ). Pastebima tendencija – kylant etanolio koncentracijai iki 50%, sauso likučio kiekis didėja, o po to – mažėja. Pastebima priklausomybė tarp etanolinio tirpalo koncentracijos ir sauso likučio kiekio ( $p < 0,05$ ).

Tyrimų rezultatai pavaizduoti 8 pav. (perkoliacijos metodas) ir 9 pav. (maceracijos metodas).



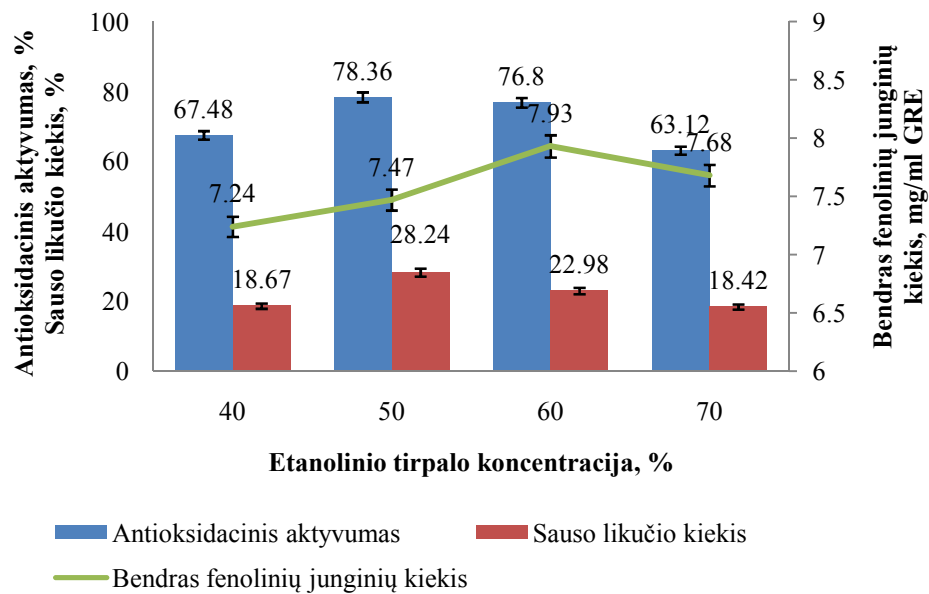
**8 pav. Beržų lapų ekstraktų antioksidacinio aktyvumo, sauso likučio kiekio ir bendro fenolinių junginių kiekio priklausomybė nuo etanolinio tirpalo koncentracijos taikant perkoliacijos gamybos metodą\***

\*-Rezultatai gauti tiriant 5 mėginius ( $n=5$ ).

Rezultatų priklausomybė nuo etanolinio tirpalo koncentracijos  $p < 0,05$ .

Perkoliacijos metodo rezultatai vs. maceracijos metodo rezultatus –  $p < 0,05$ .





**9 pav. Beržų lapų ekstraktų antioksidacinio aktyvumo, sauso likučio kiekio ir bendro fenolinių junginių kiekio priklausomybė nuo etanolio koncentracijos taikant maceracijos metodą.**

\*-Rezultatai gauti tiriant 5 mėginius ( $n=5$ ).

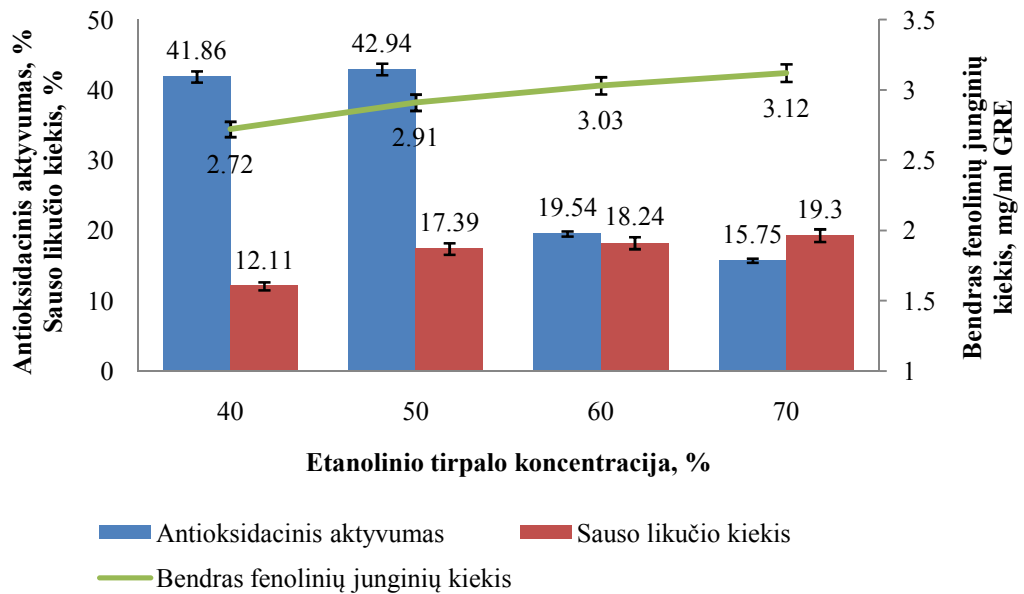
Rezultatų priklausomybė nuo etanolinio tirpalo koncentracijos  $p<0,05$ .

Perkoliacijos metodo rezultatai vs. maceracijos metodo rezultatus –  $p<0,05$ .

Beržų ekstraktai turėjo didžiausią antioksidacinį aktyvumą iš trijų augalinių žaliavų. Geriausias antioksidacinis aktyvumas buvo ekstraktų, ekstrahuotų 50% etanoliniu tirpalu, perkoliacijos ir maceracijos pagamintų beržų lapų ekstraktų (atitinkamai  $84,66\pm 2,03\%$  ir  $78,36\pm 1,41\%$ ), tačiau nedaug skyrėsi ir ekstrahuotas 60% etanoliniu tirpalu beržų lapų ekstraktas (atitinkamai  $83,72\pm 2,0\%$  ir  $76,8\pm 1,38\%$ ). Mažiausią aktyvumą rodė 70% etanoliniu tirpalu ekstrahuoti beržų lapų ekstraktai – perkoliuotas  $71,95\pm 1,73\%$ , maceruotas –  $63,12\pm 1,14\%$ . Maceruoti ekstraktai turėjo statistiškai reikšmingai mažesnę antioksidacinį aktyvumą, nei perkoliuoti ekstraktai. Galima teigti, kad priklausomybė tarp etanolio tirpalo koncentracijos ir beržų lapų ekstraktų antioksidacinio aktyvumo yra statistiškai patikima ( $p<0,05$ ).

Ištirus beržų lapų ekstraktų bendrą fenolinių junginių kiekį, matoma, kad ekstrahuojant žaliavą 50% etanoliniu tirpalu, išsieksstrahuoja didesni kiekiai junginių. Naudojant perkoliacijos metodą ir 50% etanolinį tirpalą kaip ekstrahentą, išsieksstrahavo  $8,27\pm 0,1$  mg/ml GRE. Naudojant maceracijos metodą –  $7,68\pm 0,14$  mg/ml GRE.

**Pankolių vaisių ekstraktų tyrimas.** Pankolių vaisių ekstraktai gauti skaidrūs, be akimi pastebimų balastinių medžiagų. Tyrimų rezultatai pateikti 10 pav. (perkoliacija) ir 11 pav. (maceracija).

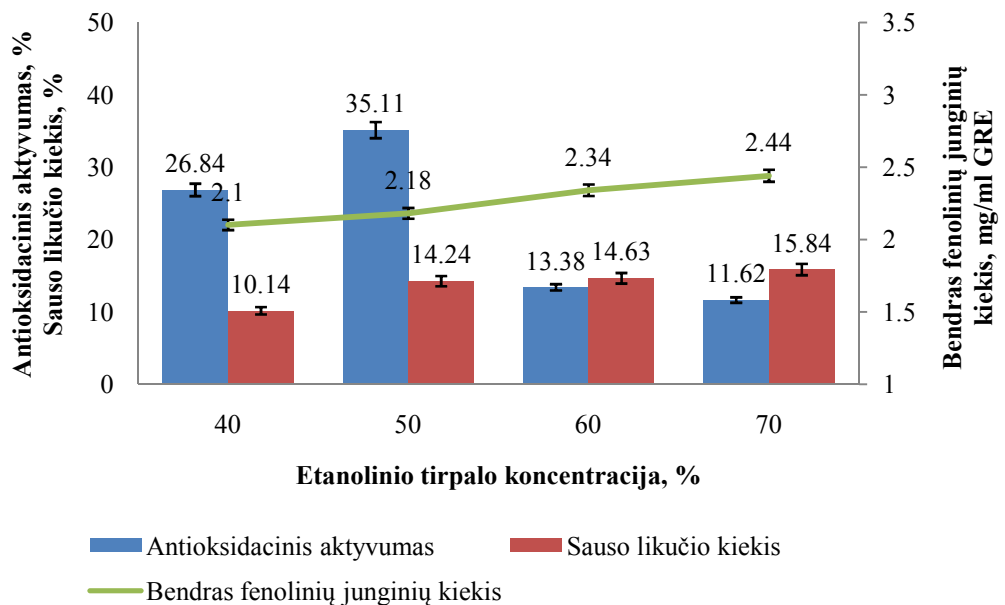


**10 pav. Pankolių vaisių ekstraktų antioksidacinio aktyvumo, sauso likučio kiekio ir bendro fenolinių junginių kiekio priklausomybė nuo etanolio koncentracijos taikant perkoliacijos metodą**

\*-Rezultatai gauti tiriant 5 mėginius ( $n=5$ ).

Rezultatų priklausomybė nuo etanolinio tirpalo koncentracijos  $p<0,05$ .

Perkoliacijos metodo rezultatai vs. maceracijos metodo rezultatus –  $p<0,05$ .



**11 pav. Pankolių vaisių ekstraktų antioksidacinio aktyvumo, sauso likučio kiekio ir bendro fenolinių junginių kiekio priklausomybė nuo etanolio koncentracijos taikant maceracijos metodą.**

\*-Rezultatai gauti tiriant 5 mėginius ( $n=5$ ).

Rezultatų priklausomybė nuo etanolinio tirpalo koncentracijos  $p<0,05$ .

Perkoliacijos metodo rezultatai vs. maceracijos metodo rezultatus –  $p<0,05$ .

Ekstraktas, pagamintas perkoliacijos gamybos metodu naudojant 70% etanolinį tirpalą rodė didžiausią sausą likutį ( $19,3\pm 0,91\%$  perkoliacijos metodu ir  $15,84\pm 0,79\%$  maceracijos metodu gautų ekstraktų). Mažiausias sausas likutis buvo ekstraktų, kurie buvo ekstrahuoti naudojant 40% etanolinį tirpalą – atitinkamai  $12,11\pm 0,57\%$  ir  $10,14\pm 0,51\%$ .

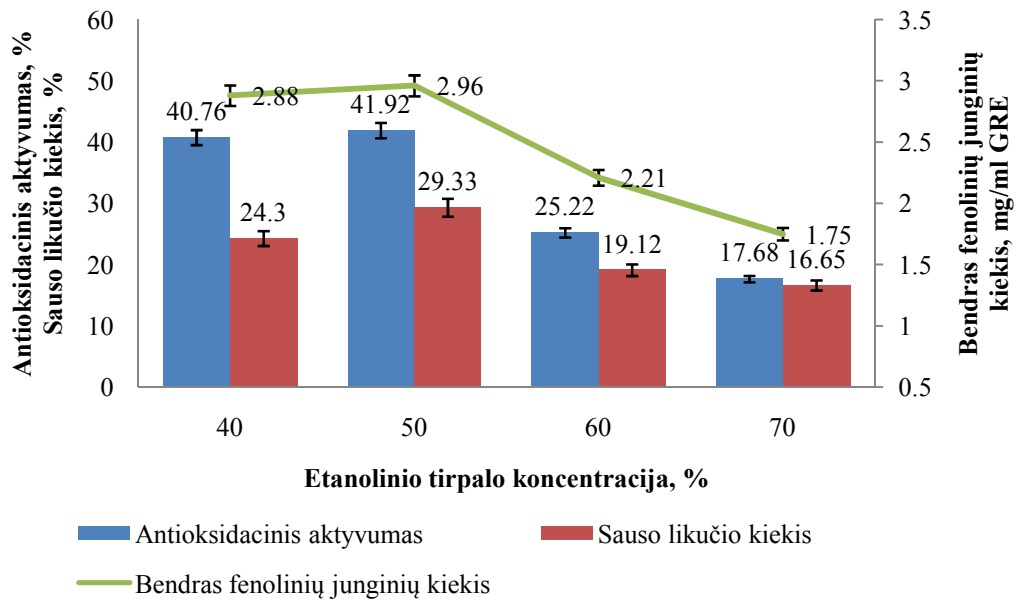
Ištirus 40%, 50%, 60% ir 70% etanolio tirpalais ekstrahuotus pankolių vaisių ekstraktus, nustatyta, kad didžiausią antioksidacinį aktyvumą turi pankolių 50% etanoliniu tirpalu ir perkoliacijos metodu gautas ekstraktas ( $42,94\pm 0,82\%$ ). 40% ir 50% etanoliniais tirpalais ekstrahuoti ekstraktai turėjo panašų antioksidacinį aktyvumą (atitinkamai  $41,86\pm 0,80\%$  ir  $42,94\pm 0,82\%$ ). Pastebima ir ekstraktų gamybos metodų įtaka antioksidaciniam pankolių vaisių ekstraktų aktyvumui – jis ties kiekviena etanolinio tirpalo koncentracija yra statistiškai reikšmingai mažesnis, negu perkoliacijos metodu pagamintų ekstraktų ( $p < 0,05$ ).

Didžiausias pankolių vaisių fenolių kiekis išsiekstrahavo naudojant 70% etanolinį tirpalą. Taikius perkoliacijos gamybos metodą gautas  $3,12\pm 0,06$  mg/ml GRE kiekis, o taikant maceracijos metodą –  $2,44\pm 0,04$  mg/ml GRE. Mažiausias fenolinių junginių kiekis nustatytas ekstraktus gaminant su 40% koncentracijos etanoliniu tirpalu. Perkoliuotas ekstraktas turėjo  $2,72\pm 0,05$  mg/ml GRE fenolinių junginių kiekį, o maceruotas –  $2,0\pm 0,03$  mg/ml GRE fenolinių junginių kiekį. Galima teigti, kad fenolinių junginių kiekis pankolių vaisių ekstraktuose priklauso nuo etanolinio tirpalo koncentracijos ( $p < 0,05$ ) ir nuo gamybos metodo – taikant maceracijos metodą išsiekstrahuoja statistiškai reikšmingai mažesnis fenolinių junginių kiekis ( $p < 0,05$ ).

***Našlaičių ekstraktų tyrimas.*** Našlaičių ekstraktai turėjo šiek tiek matomų balastinių medžiagų. Jų sausas likutis buvo mažesnis nei beržų lapų ekstraktų. Didžiausias sausas likutis išsiekstrahavo esant 50% ekstrahentui ( $29,33\pm 1,47\%$  perkoliacijos būdu ir  $26,81\pm 0,86\%$ ) Perkoliacijos metodu gauti ekstraktai turėjo didesnę sausą likutį, negu gauti maceracijos metodu.

Našlaičių žolės antioksidacinis aktyvumas buvo panašus į pankolio vaisių ekstraktų antioksidacinį aktyvumą. Didžiausią aktyvumą rodė našlaičių žolės ekstraktas, perkoliuotas 50% ekstrahento tirpalu ( $41,92\pm 1,26\%$  pagaminus perkoliacijos metodu ir  $36,3\pm 1,13\%$  pagaminus maceracijos metodu), tačiau labai nežymiai skyrėsi 40% etanoliniu tirpalu perkoliuotas ekstraktas (atitinkamai  $40,76\pm 1,22\%$  ir  $34,06\pm 1,06\%$ ).

Tyrimų rezultatai pavaizduoti 12 pav. (perkoliacija) ir 13 pav. (maceracija).

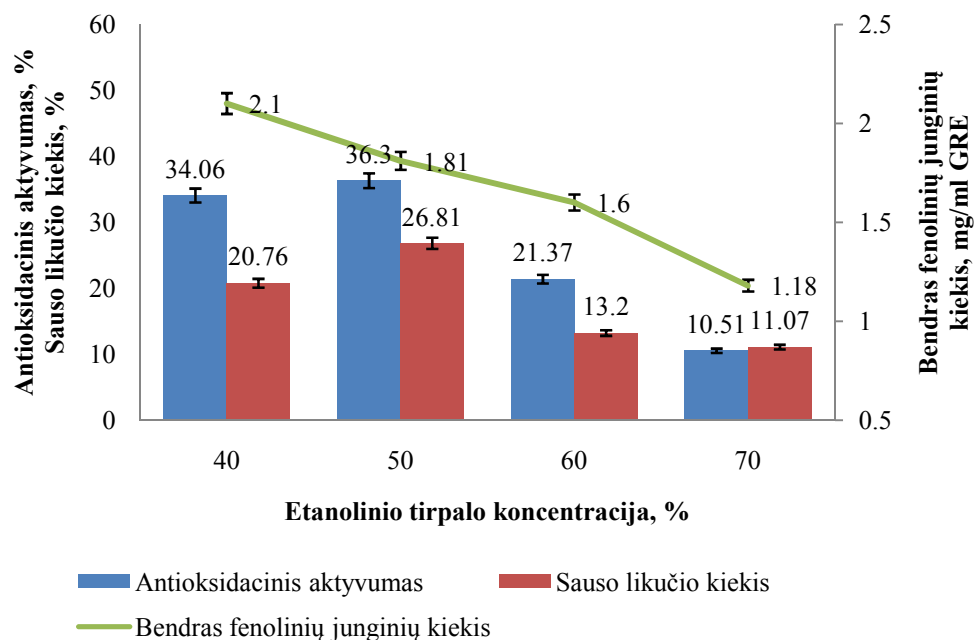


12 pav. Našlaičių žolės ekstraktų antioksidacinio aktyvumo, sauso likučio kiekio ir bendro fenolinių junginių kiekio priklausomybė nuo etanolio koncentracijos taikant perkoliacijos metodą\*

\*-Rezultatai gauti tiriant 5 mėginius ( $n=5$ ).

Rezultatų priklausomybė nuo etanolinio tirpalo koncentracijos  $p<0,05$ .

Perkoliacijos metodo rezultatai vs. maceracijos metodo rezultatus –  $p<0,05$ .



13 pav. Našlaičių žolės ekstraktų antioksidacinio aktyvumo, sauso likučio kiekio ir bendro fenolinių junginių kiekio priklausomybė nuo etanolio koncentracijos taikant maceracijos metodą\*

\*-Rezultatai gauti tiriant 5 mėginius ( $n=5$ ).

Rezultatų priklausomybė nuo etanolinio tirpalo koncentracijos  $p<0,05$ .

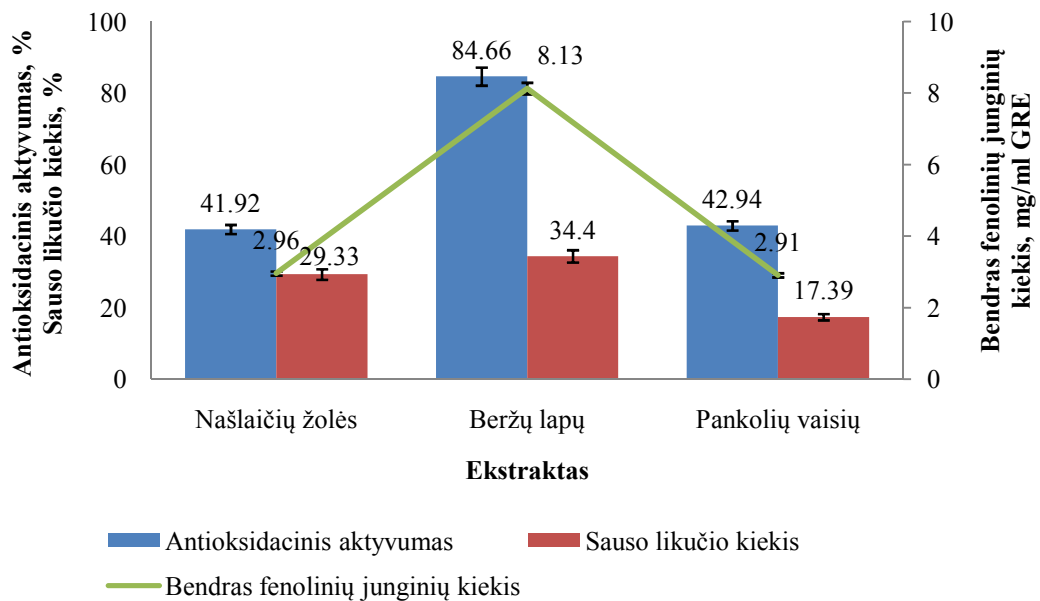
*Perkoliacijos metodo rezultatai vs. maceracijos metodo rezultatus –  $p < 0,05$ .*

Nustačius bendrą fenolinių junginių kiekį našlaičių žolės ekstraktuose, matoma, kad didžiausią kiekį išekstrahavo 50% koncentracijos etanolinis tirpalas, gaminant ekstraktą perkoliacijos metodu -  $2,96 \pm 0,09$  mg/ml GRE. Tačiau maceruotas šios etanolio koncentracijos ekstraktas turėjo tik  $1,81 \pm 0,05$  mg/ml GRE. Tai statistiškai reikšmingas skirtumas ( $p < 0,05$ ). Mažiausią fenolinių junginių kiekį turėjo ekstraktai, pagaminti su 70% koncentracijos etanoliniu tirpalu. Perkoliacijos metodu gamintas ekstraktas turėjo  $1,75 \pm 0,05$  mg/ml GRE fenolinių junginių kiekį, o maceracijos metodu pagamintas –  $1,18 \pm 0,03$  mg/ml GRE fenolinių junginių kiekį.

**Apibendrinimas.** Naudojant perkoliacijos gamybos metodą, visų ekstraktų sauso likučio kiekiai buvo mažesni, nei naudojant maceracijos gamybos metodą. Taikant šį ekstrahavimo būdą, išiekstrahuoja mažesni fenolinių junginių kiekiai, negu naudojant perkoliacijos metodą. Atlikus tyrimus, kuriuose tirta etanolinio tirpalo koncentracijos įtaka sauso likučio kiekiui, nustatyta, kad jis turi tam įtakos ( $p < 0,05$ ). Ekstraktų gamybos metodas taip pat turi įtakos sausam likučiu – naudojant perkoliacijos gamybos metodą likutis yra reikšmingai didesnis, nei naudojant maceracijos gamybos metodą ( $p < 0,05$ ). Matoma, kad statistiškai reikšmingas yra ryšys tarp etanolinio tirpalo koncentracijos ir ekstraktų antioksidacinio aktyvumo ir bendro fenolinių junginių kiekio ( $p < 0,05$ ). Pastebima ir priklausomybė tarp maceracijos ir perkoliacijos metodų įtakos antioksidaciniam aktyvumui. Maceruoti ekstraktai visais atvejais yra mažiau aktyvūs. Tai statistiškai reikšmingas skirtumas ( $p < 0,05$ ). Galima teigti, kad efektyvesnis skystųjų ekstraktų gamybos metodas yra perkoliacija.

### **3.2. Pasirinktų ekstraktų antioksidacinio aktyvumo, sauso likučio kiekio ir bendro fenolinių junginių kiekio palyginimas**

Analizės metu ištyrus visų augalinių žaliavų ekstraktų antioksidacines savybes, išrinktos kiekvienos žaliavos geriausią AA turėję ekstraktai. Jų visų gamybos metodas buvo perkoliacija. Palyginus šiuos ekstraktus, pastebima, kad geriausias antioksidacines savybes turi beržų lapų ekstraktas ( $84,66 \pm 2,03\%$ ), pankolio vaisių ekstrakto aktyvumas yra ( $42,94 \pm 0,82\%$ ), o nuo našlaičių žolės ekstrakto antioksidacinis aktyvumas -  $41,92 \pm 1,26\%$ . Didžiausias sauso likučio kiekis taip pat gautas tiriant beržų lapų ekstraktą. Ekstraktų antioksidacinio aktyvumo, bendro fenolinių junginių kiekio ir sauso likučio kiekio palyginimas pateiktas 14 pav.



**14 pav. Augalinių žaliavų ekstraktų antioksidacinio aktyvumo, sauso likučio kiekio ir bendro fenolinių junginių kiekio palyginimas\***

\*-į sirupų sudėtį įtraukti ekstraktai buvo gaminti perkoliacijos metodu, naudojant 50% etanolinį tirpalą kaip ekstrahentą

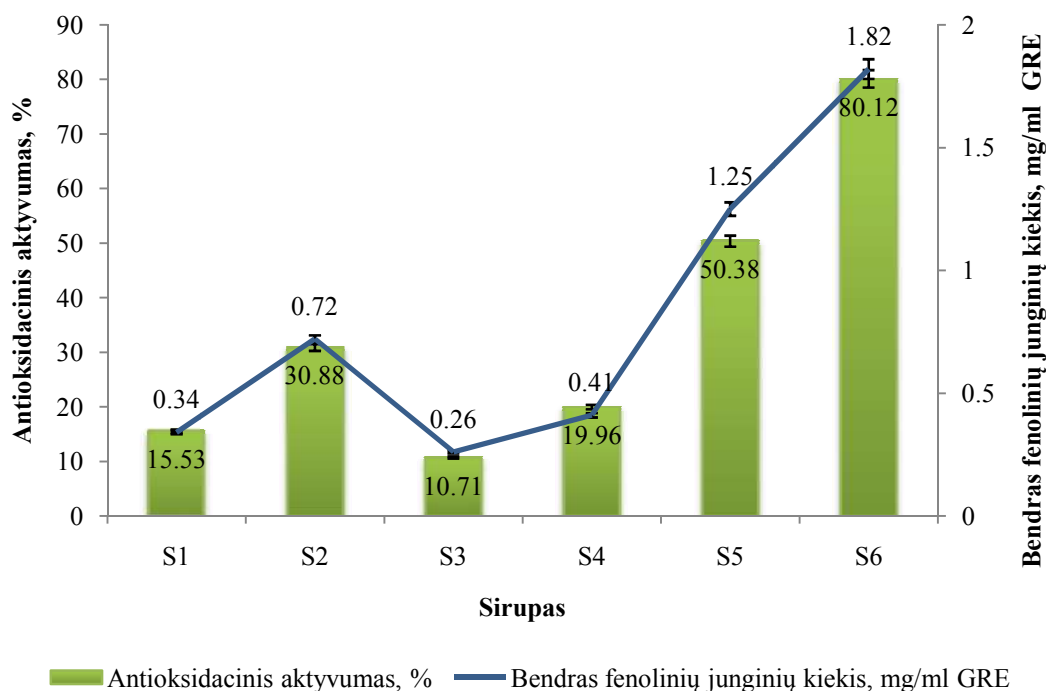
Didžiausią bendrą fenolinių junginių kiekį ( $8,13 \pm$  mg/ml GRE) taip pat turėjo beržų lapų ekstraktas. Aptarti beržų lapų, našlaičių žolės ir pankolių vaisių ekstraktai įtraukti į sirupų receptūras.

### 3.3. Optimalios etanolinio tirpalo koncentracijos nustatymas beržų lapų, pankolių vaisių ir našlaičių žolės skystųjų ekstraktų gamybai

Pagaminus ir ištyrus žaliavų skystuosius ekstraktus, buvo siekta įvertinti, kuri etanolinio tirpalo koncentracija yra tinkamiausia kiekvienos iš šių augalinių žaliavų ekstrakcijai. Atlikus mokslinės literatūros analizę, žinoma, kad flavonoidai geriausiai išsiekstrahuoja naudojant 40-70% etanolinį tirpalą. Trims tirtoms žaliavoms optimaliausia etanolinio tirpalo koncentracija nustatyta 50%. Šios koncentracijos etanoliniu tirpalu ekstrahuoti pankolių vaisių ekstraktai turėjo didžiausią antioksidacinį aktyvumą, nors didžiausias sauso likučio kiekis ir bendras fenolinių junginių kiekis buvo ekstrahuojant 70% etanoliniu tirpalu. Beržų lapų ekstraktų sausas likutis bei antioksidacinis aktyvumas buvo didžiausias gaminant juos su 50% etanoliniu tirpalu nors bendras fenolinių junginių kiekis išsiekstrahavo su 60% etanoliniu tirpalu. Našlaičių žolės skystųjų ekstraktų sauso likučio kiekis, antioksidacinis aktyvumas ir fenolinių junginių kiekis buvo didžiausias ekstrahuojant 50% etanoliniu tirpalu.

### 3.4. Sirupų antioksidacinis aktyvumas ir bendras fenolinių junginių kiekis

Sirupų antioksidaciniai aktyvumai ir bendri fenolinių junginių kiekiai pavaizduoti 15 pav.



15 pav. *Sirupų antioksidacinis aktyvumas ir bendras fenolinių junginių kiekis\**

\*-sirupų sudėtis žiūrėti 3 lentelėje, skyriuje "Sirupų gamyba".

Rezultatai gauti tiriant 5 mėginius ( $n=5$ ).

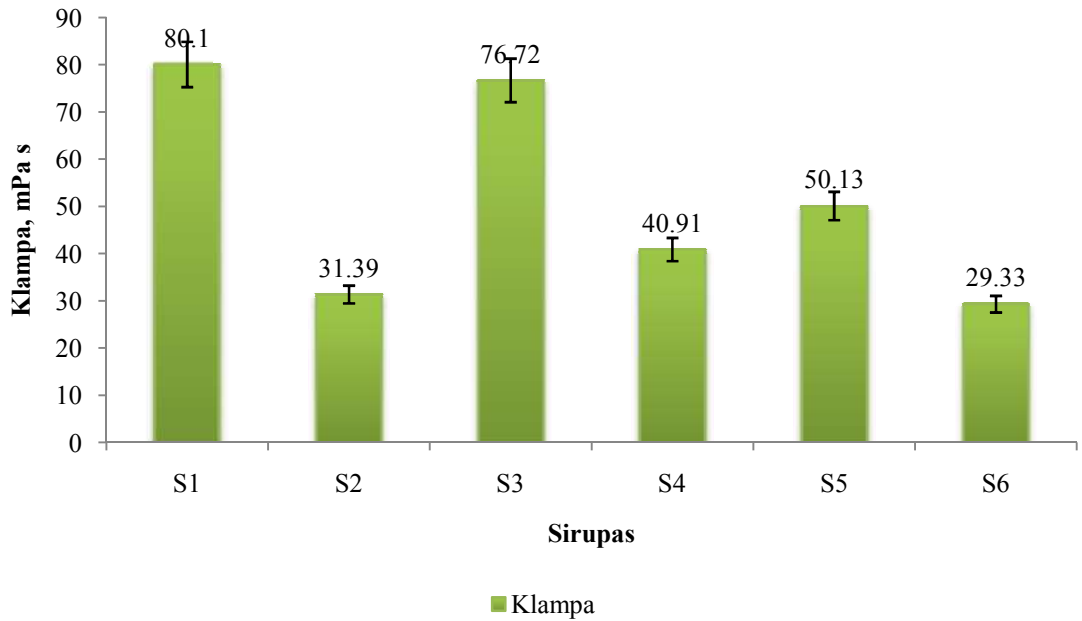
Analizės metu ištyrus sirupų antioksidacinį aktyvumą, geriausią aktyvumą rodė S6 sirupas ( $80,12 \pm 1,6\%$ ). Šio sirupo sudėtis buvo 3g našlaičių žolės 50% koncentracijos etanoliniu tirpalu ekstrahuoto ekstrakto, 2g pankolių vaisių 50% koncentracijos etanoliniu tirpalu ekstrahuoto ekstrakto ir 10g beržų lapų 50% koncentracijos etanoliniu tirpalu ekstrahuoto ekstrakto. Šio sirupo bendras fenolinių junginių kiekis buvo  $1,82 \pm 0,04$  mg/ml GRE.

Mažiausią antioksidacinį aktyvumą turėjo sirupas S3 ( $10,71 \pm 0,21\%$ ), kurio sudėtis buvo 1g našlaičių žolės 50% koncentracijos etanoliniu tirpalu perkoliuoto ekstrakto, 5g pankolių vaisių 50% koncentracijos etanoliniu tirpalu perkoliuoto ekstrakto ir 2g beržų lapų 50% koncentracijos etanoliniu tirpalu perkoliuoto ekstrakto. Šio sirupo bendras fenolinių junginių kiekis buvo  $0,26 \pm 0,01$  mg/ml GRE.

Pastebima, kad didėjant ekstraktų kiekiui sirupe, didėja ir sirupo antioksidacinis aktyvumas bei bendras fenolinių junginių kiekis. ( $p < 0,05$ )

### 3.5. Sirupų klampos priklausomybė nuo skystųjų ekstraktų kiekio

Nustatytos šešių sirupų dinaminės klampos reikšmės pavaizduotos 16 pav.

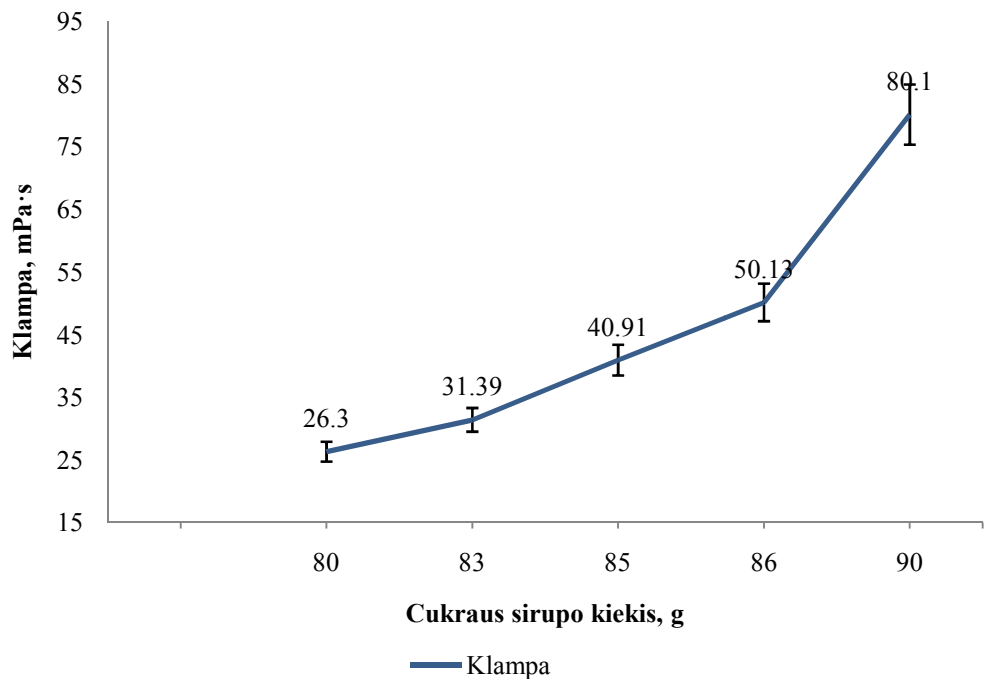


**16 pav. Nustatytos sirupų klamos reikšmės**

\*-sirupų sudėtis žiūrėti 3 lentelėje, skyriuje “Sirupų gamyba”.

Rezultatai gauti tiriant 5 mėginius (n=5).

Sirupo klamos priklausomybė nuo cukraus sirupo kiekio pavaizduota 17 pav.



**17 pav. Sirupų klamos priklausomybė nuo cukraus sirupo kiekio\***

\*-sirupų sudėtis žiūrėti 3 lentelėje, skyriuje “Sirupų gamyba”.

Rezultatai gauti tiriant 5 mėginius (n=5).



Kuo daugiau į ekstraktus dedama skystosios dalies (našlaičių žolės, pankolių vaisių, beržų lapų ekstraktų ir 90% etanolio), proporcingai mažėja klampa. Didžiausią klampumą turėjo S1 ( $80,1 \pm 4,81$  mPa·s). Jo klampa buvo panaši su S3 ( $76,72 \pm 4,6$  mPa·s). Mažiausia klampa buvo S6 ( $29,33 \pm 1,76$  mPa·s) ir S2 ( $31,39 \pm 1,88$  mPa·s).

Kuo didesnė sirupo klampa, tuo jis ilgiau išlieka stabilus, nepradeda gesti, tačiau skystesni sirupai yra labiau priimtini vartojimui. Didėjant paprastojo cukraus sirupo kiekiui 100g sirupo, didėja sirupo klampa. Didėjant ekstraktų daliai sirupe, mažėja jo klampa, tuo pačiu didėja ir sirupo antioksidacinis aktyvumas. Nustatyta, kad sirupų klamos priklausomybė nuo ekstraktų dalies sirupe yra statistiškai reikšminga ( $p < 0,05$ ).

### 3.6. Sirupų juslinės savybės

Pagamintų sirupų juslinių savybių įvertinimas pateiktas 4 lentelėje.

*4 lentelė. Pagamintų sirupų juslinių savybių įvertinimas\**

	Sirupas					
	S1	S2	S3	S4	S5	S6
Spalva	Gelsvai ruda	Ruda	Gelsva	Gelsva	Gelsvai ruda	Ruda
Kvapas	+	+	+	+	+	-
Skonis	+	-	+	-	+	-
Konsistencija	-	+	-	+	+	+

\*-Sirupų sudėtis žiūrėti 3 lentelėje, skyriuje "Sirupų gamyba".

Sirupų dinaminės klamos reikšmės pateiktos 16 pav.

+ ir - rodo juslinės savybės priimtinumą ar nepriimtinumą.

Visi pagaminti sirupai turėjo saldų, savotišką skonį. Didėjant ekstraktų kiekiui sirupuose, žaliavų skonis intensyvėja. Sirupų skonis, kuriuose mažesnis ekstraktų kiekis, yra malonesnis, nei sirupų, kuriuose ekstraktų dalis yra didesnė. Malonų skonį turėjo S1, S3 ir S5 sirupas. Visi sirupai turėjo savotišką salsvą kvapą. Kvapas buvo malonus S1, S2, S3 ir S5 sirupų. S4 ir S6 sirupų kvapas buvo per daug intensyvus, kadangi juose buvo didelė dalis pankolių vaisių ir atitinkamai beržų lapų ekstrakto. Sirupų spalvos buvo nuo gelsvos iki rudos spalvos. Ruda spalva nepasirodė estetiška. Gelsvos ir rudai gelsvos spalvos sirupai spalvos atžvilgiu yra priimtinausi. Tirštų sirupų konsistencija yra nemalonaus pojūčio, todėl S1 ir S3 sirupų konsistencija yra nepriimtina. S2, S4, S5 ir S6 sirupų konsistencija buvo skysta ir priimtina. Išanalizavus visų sirupų spalvos, konsistencijos, skonio ir kvapo

savybes, manau, kad geriausiomis juslinėmis savybėmis pasižymi S5 sirupas. Jis yra skystos konsistencijos, malonaus kvapo ir skonio, gelsvai rudos spalvos.

### **3.7. Sirupų stabilumas**

Cukraus sirupo 5 serijų stabilumas buvo tirtas 24 mėnesius. Pavyzdžių kriterijai (organoleptinės savybės, antioksidacinis aktyvumas, dinaminė klampa, lūžio rodiklis) nepakito. Remiantis duomenimis nustatyta, kad kokybės rodikliai atitiko normą 2 metus. Rezultatai pateikti 1 priede.

## 4. IŠVADOS

1. Atlikus pagamintų skystųjų beržų lapų, našlaičių žolės ir pankolių vaisių ekstraktų analizę, nustatyta, kad didesnis sausas likutis, bendras fenolinių junginių kiekis ir didesnis antioksidacinis aktyvumas gaunamas žaliavas ekstrahuojant perkoliacijos metodu. Naudojant maceracijos būdą, šie dydžiai gaunami statistiškai reikšmingai mažesni ( $p < 0,05$ ).
2. Atlikus spektrofotometrinius tyrimus, nustatyta, kad didžiausiu antioksidaciniu aktyvumu pasižymi 50% (v/v) etanoliniu tirpalu ekstrahuoti ir perkoliacijos gamybos metodu gauti beržų lapų, pankolių vaisių ir našlaičių žolės ekstraktai (atitinkamai  $84,66 \pm 2,05\%$ ,  $42,94 \pm 0,82\%$  ir  $41,92 \pm 1,26\%$ ). Nustatyta priklausomybė tarp ekstrahento koncentracijos ir ekstraktų antioksidacinio aktyvumo ( $p < 0,05$ ).
3. Taikant gravimetrinį metodą, nustatytas didžiausias kiekvienos žaliavos ekstrakto sauso likučio kiekis: beržų lapų  $34,4 \pm 1,72\%$  (ekstrahentas - 50% etanolinis tirpalas), pankolių vaisių  $19,3 \pm 0,91\%$  (ekstrahentas - 70% etanolinis tirpalas), našlaičių žolės  $29,33 \pm 1,47\%$  (ekstrahentas - 50% etanolinis tirpalas). Nustatyta priklausomybė tarp ekstrahento koncentracijos ir ekstraktų sauso likučio kiekio. ( $p < 0,05$ ).
4. Atlikus spektrofotometrinius tyrimus, nustatytos didžiausios kiekvienos žaliavos bendro fenolinių junginių kiekio reikšmės. Perkoliacijos metodu gautų beržų lapų ekstraktų –  $8,27 \pm 0,1$  mg/ml GRE (ekstrahentas - 60% (v/v) koncentracijos etanolinis tirpalas), našlaičių žolės ekstraktų –  $2,96 \pm 0,09$  mg/ml GRE (ekstrahentas - 50% koncentracijos etanolinis tirpalas), pankolių vaisių ekstraktų –  $3,12 \pm 0,06$  mg/ml GRE (ekstrahentas - 70% koncentracijos etanolinis tirpalas). Nustatyta priklausomybė tarp ekstrahento koncentracijos ir bendro fenolinių junginių kiekio ( $p < 0,05$ ).
5. Atlikus eksperimentus, į sirupų receptūrą buvo įtraukti perkoliacijos gamybos metodu, su 50% etanoliniu tirpalu pagaminti ekstraktai. Ištyrus sirupų antioksidacines savybes, bendrą fenolinių junginių kiekį bei dinaminę klampą, nustatyta, kad geriausiomis antioksidacinėmis savybėmis ( $80,12 \pm 1,6\%$ ) pasižymi ir didžiausią fenolinių junginių kiekį ( $1,82 \pm 0,04$  mg/ml GRE) turi sirupas, kurio sudėtyje yra 3g našlaičių žolės ekstrakto, 2g pankolių vaisių ekstrakto, 10g beržų lapų ekstrakto.
6. Įvertinus pagamintų sirupų juslines savybes, nustatyta, kad priimtiniu kvapu, skoniu ir konsistencija pasižymi sirupas S5, kurio sudėtyje yra 3g našlaičių žolės ekstrakto, 2g pankolių vaisių ekstrakto, 5g beržų lapų ekstrakto.
7. Atlikus sirupų stabilumo tyrimą, nustatyta, kad pagaminti sirupai išliko stabilūs 24 mėnesius laikant juos  $25 \pm 2$  °C temperatūroje, esant  $60 \pm 5\%$  santykinei drėgmei, tamsioje, gerai vėdinamoje vietoje. Jų organoleptinių savybių, antioksidacinio aktyvumo, fenolinių junginių kiekio, dinaminės klamos ir lūžio rodiklio pokyčiai yra statistiškai nereikšmingi ( $p > 0,05$ ).

## PRAKTINĖS REKOMENDACIJOS

Laboratorinių eksperimentų ir tyrimų metu buvo pagaminta ir iširta našlaičių žolės, pankolio vaisių, beržų lapų skystieji ekstraktai. Nagrinėjamoje literatūroje nurodoma, kad atlikti tyrimai, įrodantys našlaičių žolės antiuždegiminį poveikį. [40] Vienas svarbiausių ląstelių vidinių antioksidantų yra glutationas. Tyrimais įrodyta, kad augaliniai polifenoliniai junginiai didina  $\gamma$ -glutamilsteino sintetazės ekspresiją, tuo pačiu didėja glutationo kiekis. [47] Šiame darbe aprašyti tyrimai įrodo, kad nagrinėjamos žaliavos turi fenolinių junginių ir pasižymi antioksidaciniu aktyvumu.

Remiantis žaliavų chemine sudėtimi bei šiame darbe atliktais tyrimais, galima spręsti, kad šių ekstraktų turintis sirupas būtų aktyvus gydant kvėpavimo takų ligų simptomus – uždegimą, kosulį. Norint įrodyti sirupo farmakologinį poveikį, reikėtų atlikti klinikinius tyrimus.

## LITERATŪRA

1. Manzoor A. Rather, Bilal A. Dar, Shahnawaz N. Sofi, Bilal. A. Bhat, Mushtaq A. Qurishi  
*Foeniculum vulgare*: A comprehensive review of its traditional use, phytochemistry, pharmacology, and safety. *Arabian Journal of chemistry*, 2012; 4(17):11-21
2. Badgujar S. B., Patel V. V., Bandivdekar A. H. *Foeniculum vulgare* Mill: A Review of Its Botany, Phytochemistry, Pharmacology, Contemporary Application, and Toxicology. *BioMed Research International*, 2014;08:1-32
3. European pharmacopoeia 7.0, vol.1, 01/2011
4. Zoubiri S., Baaliouamer A., Seba N., Chamouni N. Chemical composition and larvicidal activity of Algerian *Foeniculum vulgare* seed essential oil. *Arabian Journal of Chemistry* 2010;09:480-485
5. Shahat A. A. et al. Chemical composition, antimicrobial and antioxidant activities of essential oils from organically cultivated fennel cultivars. *Molecules* 2011;16:1366-1377
6. M. Gulfranz, S. Mehmood, N. Minhas, N. Jabeen, R. Kausar, K. Jabeen, G. Arshad, Composition and antimicrobial properties of essential oil of *Foeniculum vulgare*. *African Journal of Biotechnology* 2008;7 (24):4364-4368
7. De Marino S. et al. Phenolic glycosides from *Foeniculum vulgare* fruit and evaluation of antioxidative activity. *Phytochemistry* 2007;68:1805-1812
8. Fennel [žiūrēta 2015-01-12]. Prieiga per internetą: <http://www.drugs.com/npp/fennel.html>
9. Singh G. et al. Antioxidant and antibacterial investigations on essential oils and acetone extracts of some spices. *Natural Product Radiance* 2007; 2(6):114-121
10. Kooti W. et al. Therapeutic and pharmacological potential of *Foeniculum vulgare* Mill.: a review. *J Herb Med Pharmacol* 2015; 1(4):1-9
11. Tuie H. A. et al. Chemical composition and biological potentials of aqueous extracts of fennel (*Foeniculum vulgare* Mill.). *Journal of Applied Sciences Research* 2013; 3(9):1759-1767
12. Ozcan M. M. et al. Comparative essential oil composition and antifungal effect off bitter fennel (*Foeniculum vulgare* ssp. *Piperitum*) fruit oils obtained during different vegetation. *J Med Food* 2006;4(9):552-561
13. Bin Shan, Yizhong Z. Cai, Mei Sun, and Corke H. Antioxidant Capacity of 26 Spice Extracts and Characterization of Their Phenolic Constituents. *J. Agric. Food Chem.* 2005;20 (53):7749–7759.

14. M. H. Boskabady, A. Khatami, A. Nazari. Possible mechanism(s) for relaxant effects of *Foeniculum vulgare* on guinea pig tracheal chains. *Pharmazie* 2004;59:561–564
15. G. Puodžiūnienė, V. Janulis, A. Milašius, V. Budnikas. Atsikosėjimą gerinančių vaistažolių mišinių sukūrimas. *Medicina* 2004;8(40)
16. Hui Su Lee, Purum Kang, Ka Young Kim, and Geun Hee Seol. *Foeniculum vulgare* Mill. Protects against Lipopolysaccharide-induced Acute Lung Injury in Mice through ERK-dependent NF-κB Activation. *Korean J Physiol Pharmacol* 2015;3(19):183 – 189.
17. Rabeh N. M., Aboraya A. D. Hepatoprotective effect of Dill (*Anethum graveolens* L.) and Fennel (*Foeniculum vulgare* Mill.) oil on hepatotoxic rats. *Pakistan Journal of nutrition* 2014; 6 (13):303-309
18. M. D. Atkinson. *Betula pendula* Roth. And *B. pubescens* Ehrh. *Journal of ecology* 1992;80:837-870
19. B. Demirci, D.H. Paper, F. Demirci, K. Husnu Can Baser, G. Franz. Essential oil of *Betula Pendula* Roth. buds. *eCAM* 2004; 1(3):301-303
20. B. Samura, J. Bernatoniene, A. Savickas, V. Gončarenko, R. Klimas, V. Lepaxin, R. Bernatoniene. Rugiagėlių, asiūklių, dobių ir beržų mišinio poveikis žiurkių diurezei. *Medicinos teorija ir praktika* 2006;1(45):38-42
21. Nikolova M. et al. Screening of plants extracts for antioxidant properties. *Botanica Serbica* 2011; 1(35):43-48
22. Germano M. P. et al. *Betula Pendula* leaves: Polyphenolic characterization and potential innovative use in skin whitening products. *Fitoterapia* 2012; 83:877-882
23. Elio C. et al. Treatment of Edematofibrosclerotic panniculitis (cellulite) and of localised adiposity with extracts of birch, melilotus, orthosipon, bromelin and red vine leukocyanidine: results from a single-centre observational prospective study. *Journal of Cosmetics, Dermatological Sciences and Applications* 2014; 4:166-172
24. Raal A., Boikova T., Pussa T. Content and dynamics of polyphenols in *Betula* spp. leaves naturally growing in Estonia. *Rec. Nat. Prod* 2015;9(1):41-48.
25. Raudonė L., Raudonis R., Janulis V., Viškelis P. Quality evaluation of different preparations of dry extracts of birch (*Betula pendula* Roth) leaves. *Natural Product Research: Formerly Natural Product Letters*, 2014; 19(28):1645-1648
26. W. Ch. Evans. *Trease and Evans pharmacognosy*, 2002
27. *Betula pendula* Roth.; *Betula pubescens* Ehrh., folium. Assessment report for herbal substances, herbal preparations or combinations thereof with traditional use. [žiūrėta 2015-01-16] prieiga per internetą: [http://www.ema.europa.eu/docs/en\\_GB/document\\_library/Herbal\\_-\\_HMPC\\_assessment\\_report/2010/01/WC500069013.pdf](http://www.ema.europa.eu/docs/en_GB/document_library/Herbal_-_HMPC_assessment_report/2010/01/WC500069013.pdf)

28. Raal A., Boikova T., Pussa T. Content and dynamics of polyphenols in *Betula* spp. leaves naturally growing in Estonia. *Rec. Nat. Prod* 2015;9(1):41-48.
29. Liimatainen J. Phenolics of the inner bark of silver birch: characterization and intraspecific variation. Turku, 2013
30. White Birch [žiūrėta 2015-01-12]. Prieiga per internetą: <http://www.cancer.org/treatment/treatmentsandsideeffects/complementaryandalternativemedicine/herbsvitaminsandminerals/white-birch>
31. Fulda S. Betulinic acid for cancer treatment and prevention. Review. *Int. J. Mol. Sci.* 2008,9,1096-1107.
32. Dehelean C. et al. Study of betulin enriched birch bark extracts effects on human carcinoma cells and ear inflammation. *Chemistry Central Journal* 2012,6:137.
33. Krol S. K., Kielbus M., Rivero-Muller A., Stepulak A. Comprehensive review on betulin as a potent anticancer agent. *BioMed Research International*, 2015;2:1-11.
34. Trispalvė našlaitė [žiūrėta 2015-01-12]. Prieiga per internetą: <http://www.herbaextractsplus.com/heartsease.html>
35. S. Rimkienė, O. Ragažinskienė, N. Savickienė Trispalvės našlaitės (*Viola tricolor* L.) kolekcinių pavyzdžių kaupimas – rūšies išsaugojimo bei vartojimo medicinoje galimybės. *Medicina* 2003; 4(39):411-416
36. Muhammad N., Saeed M., Awan A. A., Khan H. Ethnomedicinal, phytochemical and pharmacological profile of genus *Viola*. *Phytopharmacology* 2012, 3(1) 214-226
37. V. Vukics, B. Hevesi Toth, T. Ringer, K. Ludanyi, A. Kery1, G.K. Bonn, A. Guttman Quantitative and qualitative investigation of the main flavonoids in Heartsease (*Viola tricolor* L.). *Journal of Chromatographic Science* 2008;2(46)
38. Anca T. et al. Composition of essential oils of *Viola tricolor* and *V. arvensis* from Romania. *Chemistry of natural compounds* 2009; 1(45):91-92
39. V. Vukics, A. Kery, A. Guttman. Analysis of polar antioxidants in heartsease (*Viola tricolor* L.) and Garden pansy (*Viola x wittrockiana* Gams.). *Journal of Chromatographic Science* 2008;11(46):
40. Mariana Pianaet et al. Antiinflammatory effects of *Viola tricolor* gel in a model of sunburn in rats and the gel stability study. *Journal of Ethnopharmacology* 2013;150:458-465.
41. Kasparavičienė G, Briedis V. Kai kurie antioksidantų veikimo aspektai mažinant neigiamą laisvųjų radikalų poveikį. *Biomedicina* 2002;2:187-191
42. Yoshikawa T., Naito Y. What is oxidative stress? *JMAJ* 2002; 7(45):271-276

43. Kratchanova M. et al. Evaluation of antioxidant activity of medicinal plants containing polyphenol compounds. Comparison of two extraction systems. *Biochimica Polonica* 2010; 2(57):229-234
44. Kunwar A., Priyadarsini K. I. Free radicals, oxidative stress and importance of antioxidant in human health. *J Med Allied Sci* 2011; 1(2):53-60
45. B. Poljsak. Strategies for reducing or preventing the generation of oxidative stress. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity* 2011; 10:1-15
46. Pandey K. B., Rizvi S. I. Plant polyphenols as dietary antioxidants in human health and disease. *Oxidative Medicine and Cellular longevity* 2009; 2(5):270-278
47. Moskaug J. et al. Polyphenols and glutathione synthesis regulation. *Am J Clin Nutr* 2005; 81:277-283
48. Vladimir-Knežević S. et al. Plant polyphenolic antioxidants influencing the human health. Croatia, 2012
49. Kumar H. et al. Phenolic compounds and their health benefits: a review. *Journal of Food Research and Technology* 2014; 2:46-59
50. Kahkonen L. et al. Antioxidant activity of plant extracts containing phenolic compounds. *J Agric Food Chem* 1999; 47:3954-3962
51. Mirhashemi S. M., Aarabi M. H. Effect of two herbal polyphenol compounds on human amylin amyloid formation and destabilization. *Journal of Medicinal Plants Research* 2012; 6(16):3207-3212
52. Toda S. Polyphenol content and antioxidant effects in herb teas. *Chinese Medicine* 2011; 2:29-31
53. Allen L. V., Popovich N. G., Ansel H. C. *Ansel's pharmaceutical dosage forms and drug delivery systems*. Ninth edition, 2011
54. Oral preparations [žiūrēta 2015-02-09]. Prieiga per internetą: [http://www.usp.org/sites/default/files/usp\\_pdf/EN/USPNF/pharmaceuticalDosageForms.pdf](http://www.usp.org/sites/default/files/usp_pdf/EN/USPNF/pharmaceuticalDosageForms.pdf)
55. Lima J. L. F. C. et al. Benzoate Ion-selective electrode with improved selectivity and reproducibility for benzoate determination in medicinal syrups. *Mikrochim Acta* 1996; 124:35-41
56. Liquid dosage forms [žiūrēta 2015-02-09]. Prieiga per internetą: <http://www.newagepublishers.com/samplechapter/002130.pdf>
57. Thrasher L. *The hidden additives in children's medicines*. Southemptonas, 2013
58. Handa S. S. et al. *Extraction technologies for medicinal and aromatic plants*, Italy, 2008:67-72



59. Zykevičiūtė J. Magistro darbas “Vaistinių arbatų sudėties ir antioksidacinių savybių įvertinimas”; VDU GMF, 2009, 9–10
60. Kasparavičienė G., Briedis V. Juodųjų serbentų ir juodavaisių aronijų uogų sulčių stabilumas ir antioksidacinis aktyvumas. *Medicina* 2003;39:65-69
61. Pudžiuvėlytė L. Magistro baigiamasis darbas „Šeivamedžių žiedų ir uogų skystųjų ekstraktų ir sirupų technologijos ir kokybės vertinimas“. LSMU FF, Kaunas, 2014
62. Kumar P. K., Prasan N. D. Development and evaluation of poly herbal syrup from some herbs used as expectorant. *World Journal of Pharmacy and Pharmaceutical sciences* 2013; 2(5):3848-3853

## PRIEDAI

**1 priedas. Sirupų stabilumo tyrimo duomenys**

<b>Sirupai</b>	<b>Saugojimo laikas (mėn.)</b>	<b>Organoleptinės savybės (spalva, kvapas, skonis)</b>	<b>Klampa (Pa·s)</b>	<b>Lūžio rodiklis</b>	<b>Antioksidacinis aktyvumas (%)</b>	<b>Bendras fenolinių junginių kiekis (mg/ml GRE)</b>
<b>S1</b>	-	+	80,10±0,05	1,440±0,002	15,53±0,03	0,34±0,07
	3	+	80,0±0,04	1,439±0,001	15,52±0,04	0,33±0,04
	6	+	79,98±0,04	1,439±0,002	15,48±0,02	0,31±0,05
	12	+	79,95±0,07	1,438±0,002	15,45±0,03	0,29±0,05
	18	+	79,92±0,07	1,436±0,001	15,41±0,02	0,27±0,04
	24	+	79,89±0,1	1,435±0,002	15,38±0,01	0,26±0,06
<b>S2</b>	-	+	31,39±0,08	1,426±0,002	30,88±0,02	0,72±0,05
	3	+	31,36±0,09	1,427±0,002	30,87±0,01	0,70±0,03
	6	+	31,33±0,08	1,427±0,003	30,85±0,01	0,69±0,02
	12	+	31,31±0,1	1,428±0,003	30,81±0,02	0,66±0,02
	18	+	31,28±0,06	1,427±0,001	30,78±0,01	0,65±0,01
	24	+	31,24±0,11	1,427±0,002	30,75±0,03	0,65±0,02
<b>S3</b>	-	+	76,72±0,07	1,437±0,002	10,71±0,01	0,26±0,01
	3	+	76,69±0,06	1,436±0,002	10,68±0,02	0,25±0,01
	6	+	76,65±0,07	1,436±0,001	10,60±0,01	0,23±0,03
	12	+	76,61±0,07	1,436±0,002	10,60±0,03	0,23±0,01
	18	+	76,59±0,09	1,435±0,001	10,58±0,04	0,22±0,04
	24	+	76,56±0,12	1,434±0,001	10,55±0,0	0,21±0,03
<b>S4</b>	-	+	40,91±0,12	1,427±0,002	19,96±0,01	0,41±0,02
	3	+	40,88±0,14	1,426±0,002	19,94±0,01	0,40±0,01
	6	+	40,85±0,14	1,426±0,002	19,90±0,02	0,38±0,02
	12	+	40,86±0,12	1,425±0,001	19,89±0,03	0,37±0,02
	18	+	40,84±0,09	1,426±0,002	19,87±0,04	0,37±0,03
	24	+	40,80±0,1	1,427±0,002	19,86±0,01	0,35±0,01

<b>S5</b>	-	+	50,13±0,14	1,430±0,002	50,38±0,02	1,25±0,04
	3	+	50,09±0,12	1,431±0,002	50,36±0,01	1,23±0,01
	6	+	50,05±0,12	1,431±0,001	50,31±0,01	1,20±0,02
	12	+	50,02±0,14	1,432±0,002	50,28±0,03	1,20±0,04
	18	+	49,98±0,09	1,431±0,001	50,26±0,02	1,19±0,02
	24	+	49,97±0,08	1,430±0,002	50,22±0,03	1,18±0,01
<b>S6</b>	-	+	29,33±0,07	1,429±0,002	80,12±0,02	1,82±0,03
	3	+	29,30±0,06	1,430±0,001	80,07±0,01	1,80±0,03
	6	+	29,26±0,06	1,429±0,002	80,05±0,01	1,78±0,04
	12	+	29,23±0,06	1,431±0,001	80,02±0,02	1,76±0,02
	18	+	29,21±0,07	1,432±0,003	79,98±0,03	1,76±0,05
	24	+	29,17±0,05	1,430±0,002	79,90±0,04	1,76±0,03