



**LATVIJAS LAUKSAIMNIECĪBAS UNIVERSITĀTE**

**Pārtikas tehnoloģijas fakultāte  
Pārtikas tehnoloģijas katedra**

**MĀRRUTKU UN LUPSTĀJU BIOLOĢISKI AKTĪVO  
VIELU IZPĒTE**

*Mg.oec.*

**Lolita Tomsone**

Promocijas darbs  
inženierzinātņu doktora grāda iegūšanai  
pārtikas zinātnes nozarē

Promocijas darba vadītāja: vad. pētn., *Dr. sc. ing.* Zanda Krūma

Promocijas darba autore: *Mg. oec.* Lolita Tomsone

**Jelgava  
2015**

## ANOTĀCIJA

Lolitas Tomsones promocijas darbs „**Mārrutku un lupstāju bioloģiski aktīvo vielu izpēte**” izstrādāts no 2011. gada līdz 2015. gadam Latvijas Lauksaimniecības universitātes Pārtikas tehnoloģijas fakultātes Iepakojuma materiālu izpētes, Pārtikas produktu analīžu, Dabas vielu ķīmijas zinātniskajā un Organiskās ķīmijas, kā arī Tulūzas Nacionālā Politehniskā institūta Agroindustrijas ķīmijas laboratorijās.

Promocijas darba **hipotēze** – mārrutkos un lupstājos esošie antioksidanti kavē lipīdu oksidēšanos.

Promocijas darba pētījuma **objekts** ir Latvijā audzēti mārrutki (*Armoracia rusticana* L.) un lupstāji (*Levisticum officinale* L.).

Promocijas darba **mērķis** ir izvērtēt mārrutku un lupstāju bioloģiski aktīvās vielas, to ekstrakcijas un izmantošanas iespējas.

Darba mērķa sasniegšanai izvirzīti šādi **uzdevumi**:

1. analizēt dažāda genotipa mārrutku un lupstāju augu daļu ķīmiskā sastāva izmaiņas atkarībā no novākšanas laika;
2. izvērtēt optimālos svaigu mārrutku un lupstāju apstrādes veidus fenolu savienojumu un antioksidantu aktivitātes saglabāšanai;
3. analizēt šķīdinātāja polaritātes ietekmi uz fenolu savienojumu saturu un antioksidantu aktivitāti mārrutku un lupstāju ekstraktos;
4. izvērtēt mikroviļņu un ultraskaņas viļņu iedarbības ilguma ietekmi uz fenolu savienojumu saturu un antioksidantu aktivitāti mārrutku un lupstāju ekstraktos;
5. analizēt paaugstinātas temperatūras un spiediena ietekmi uz fenolu savienojumu saturu un antioksidantu aktivitāti mārrutku un lupstāju ekstraktos;
6. pētīt mārrutku un lupstāju ekstraktu ietekmi uz nerafinētas rapšu eļļas oksidēšanos.

Darbs strukturēts trīs nodaļās.

**1. nodaļa.** Teorētiskā daļa, kas ietver mārrutku un lupstāju bioloģiski aktīvo savienojumu raksturojumu, bioloģiski aktīvos savienojumus ietekmējošo bioloģisko faktoru raksturojumu un savienojumu izmaiņu raksturojumu apstrādes procesos, bioloģiski aktīvo savienojumu kā antioksidantu raksturojumu, dabīgo antioksidantu ekstrakcijas metožu raksturojumu.

**2. nodaļa.** Promocijas darbā izmantotie materiāli un metodes.

**3. nodaļa.** Pētījumu rezultātu apkopojums un diskusija par mārrutku un lupstāju genotipu, novākšanas laika, auga daļas, apstrādes procesu un ekstrakcijas apstākļu ietekmi uz mārrutku un lupstāju dabīgajiem antioksidantiem, dabīgo antioksidantu piedevu ietekmi uz eļļas kvalitāti.

Darba nobeigumā formulēti galvenie secinājumi.

Promocijas darbs uzrakstīts latviešu valodā, apjoms – 149 lpp., 43 tabulas, 33 attēli, 13 pielikumi. Darba izstrādei izmantoti 318 informācijas avoti.

Pētījums veikts Valsts pētījumu programmas „Lauksaimniecības resursi ilgtspējīgai kvalitatīvas un veselīgas pārtikas ražošanai Latvijā (AgroBioRes)” (2014.–2017.), projekta Nr. 4 „Vietējo lauksaimniecības resursu ilgtspējīga izmantošana kvalitatīvu un veselīgu pārtikas produktu izstrādei (PĀRTIKA)”, kā arī Francijas un Latvijas sadarbības programmas zinātnes un tehnoloģiju attīstības jomās “OSMOZE” projekta Nr. K24 „Latvijas un Vidus Pireneju aromātisko pašlaik neizmantoto aromātisko augu un sēņu sastāva un īpašību salīdzinājums” (2012.–2013.) ietvaros.

### Zinātniskā darba aprobācija

Pētījumu rezultāti apkopoti un publicēti divās monogrāfijas apakšnodaļās, vienpadsmit recenzējamās zinātniskajās izdevumos.

#### Monogrāfijas apakšnodaļas – 2

1. Krūma Z., **Tomsone L.** (2012) Fenolu savienojumi citos augu valsts produktos. No: *Bioloģiski aktīvās vielas pārtikas produktos*. Red.: Straumīte E., Galoburda R., Krūma Z., Ciproviča I., Zagorska J. Jelgava: LLU, PTF, 205.–206. lpp.
2. Krūma Z., **Tomsone L.** (2012) Fenolu savienojumu ekstrakcija. No: *Bioloģiski aktīvās vielas pārtikas produktos*. Red.: Straumīte E., Galoburda R., Krūma Z., Ciproviča I., Zagorska J. Jelgava: LLU, PTF, 206.–207. lpp.

#### Publikācijas – 11

1. **Tomsone L.**, Kruma Z. (2015) Stability of rapeseed oil with horseradish *Americanarusticana* L. and lovage *Levisticum officinale* L. extracts under medium temperature accelerated storage conditions. In: 6th International Conference „Biosystems Engineering 2015” Agronomy Research, Estonia, Tartu. (*Akceptēts publicēšanai*).
2. **Tomsone L.**, Kruma Z., Talou T., Zhao T. M. (2015) Natural antioxidants of horseradish and lovage extracted by accelerated solvent extraction. *Journal of Hygienic Engineering and Design*, Vol. 10, p. 16–24. [Electronic resource].
3. **Tomsone L.**, Kruma Z. (2014) Influence of freezing and drying on the phenol content of horseradish and lovage. **In:** *FOODBALT-2014: 9th Baltic conference on food science and technology „Food for consumer well-being”*: conference proceedings, 8–9 May, 2014, Jelgava, Latvia University of Agriculture. Faculty of Food Technology. Jelgava: LLU, p. 192–197.
4. **Tomsone L.**, Kruma Z. (2013) Comparison of different extraction methods for isolating phenolic compounds from lovage (*Levisticum officinale* L.) seeds. **In:** *Proceedings of the XI International Scientific Conference «Innovations in Science, Education and Business- 2013»*, Russia, Kaliningrad, p. 194–197. [CD.]
5. **Tomsone L.**, Kruma Z., Galoburda R., Dimins F., Kreicbergs V. (2013) Influence of technological processes on the phenol content and antioxidant properties of horseradish roots (*A Armoracia rusticana* L.). **In:** *Proceedings of the ICNFS Nutrition and Food Sciences*, Russia, Moscow, p. 6–10.
6. **Tomsone L.**, Kruma Z., Galoburda R., Talou T. (2013) Composition of volatile compounds of horseradish roots (*A Armoracia rusticana* L.) depending on genotype.

- In:** *Proceedings of Latvia University of Agriculture, 2013*, vol.29, Issue 1, (324), p. 1–10. DOI: 10.2478/plua-2013-0001. [Electronic resource].
7. **Tomsone L.**, Kruma Z. (2013) Comparison of different methods for extraction of bioactive compounds from lovage (*Levisticum officinale* L.) roots. **In:** *Proceedings of FaBE 2013 International Conferences on Food and Biosystems Engineering*, Greece, Skiathos Island, p. 225–235. [CD.]
  8. **Tomsone L.**, Kruma Z. (2013) Comparison of different solvents for isolation of phenolic compounds from horseradish (*Armoracia rusticana* L.) leaves. **In:** *Proceedings of conference Research for Rural development 2013*, Latvia, Jelgava, p. 104–110.
  9. **Tomsone L.**, Kruma Z., Alsina I., Lapse L. (2012) The application of hierarchical cluster analysis to classify genotypes of horseradish (*Armoracia rusticana* L.) roots. ISSN 1392 – 1231. *Chemine Technologija*. 2012. Vol. 62 (4), p. 52–56. DOI: doi.org/10.5755/j01.ct.62.4.3410 [Electronic resource.]
  10. **Tomsone L.**, Kruma Z., Lapse L. (2012) Influence of genotype and harvest time on the phenolic content of horseradish (*Armoracia rusticana* L.) roots. **In:** *Proceedings of conference Research for Rural development 2012*, Latvia, Jelgava, p. 124–130. (Scopus datubāze / database.)
  11. **Tomsone L.**, Kruma Z., Galoburda R. (2012) Comparison of different solvents and extraction methods for isolation of phenolic compounds from horseradish roots (*Armoracia rusticana*). *World Academy of Science, Engineering and Technology*, Issue 67, p. 903–908. [CD.]

Par rezultātiem ziņots **14 starptautiskajās zinātniskajās konferencēs** un kongresos Latvijā, Lietuvā, Igaunijā, Grieķijā, Portugālē, Francijā, Krievijā, Maķedonijā, kā arī „Riga Food 2013” un „Riga Food 2014”.

1. **Tomsone L.**, Kruma Z. (2015) Stability of rapeseed oil with horseradish *Armoracia rusticana* L. and lovage *Levisticum officinale* L. extracts under medium temperature accelerated storage conditions. 6th International Conference „Biosystems Engineering 2015”. Tartu, Igaunija, 2015. gada 7.–8. maijā. (stenda referāts / poster presentation)
2. **Tomsone L.**, Kruma Z., Talou T., Zhao T.M. (2014) Natural antioxidants of horseradish and lovage extracted by accelerated solvent extraction. Conference Nutricon 2014, Skopje, Maķedonija, 2014. gada 27.–28. novembrī. (Mutiskais referāts / oral presentation.)
3. **Tomsone L.**, Kruma Z. (2014) „Influence of freezing and drying on the phenol content of horseradish and lovage”. 9th Baltic Conference on Food Science and Technology, “Food, Health and Well-being”, Jelgava, 2014. gada 8.–9. maijā. (Stenda referāts / poster presentation.)
4. **Tomsone L.**, Kruma Z. (2013) „Comparison of different extraction methods for isolating phenolic compounds from lovage (*Levisticum officinale* L.) seeds”. XI International Scientific Conference «Innovations in Science, Education and Business- 2013», Kaļiņingrada, 2013. gada 25.–27. septembrī. (Mutiskais referāts / oral presentation.)
5. **Tomsone L.**, Kruma Z. (2013) „Comparison of different methods for extraction of bioactive compounds from lovage (*Levisticum officinale* L.) roots”. International

- Conference on Food and Biosystems Engineering, Skiatos sala, 2013. gada 30. maijs–2. jūnijs. (Stenda referāts / *poster presentation.*)
6. **Tomsone L.**, Kruma Z., Galoburda R. (2013) „Comparison of different extraction methods for isolating phenolic compounds from lovage (*Levisticum officinale* L.) leaves and stems”. 8th Baltic Conference on Food Science and Technology, “Food, Helth and Well-being”, Tallina, 2013. gada 23.–24. maijā. (Stenda referāts / *poster presentation.*)
  7. **Tomsone L.**, Kruma Z., Sarvi S., Udača L. (2013) „Phenolic compounds as natural antioxidants of lovage”. 8th International Scientific Conference “Students on their Way to Science”, Jelgava, 2012. gada 24. maijā. (Mutiskais referāts / *oral presentation.*)
  8. **Tomsone L.**, Kruma Z. (2013) „Comparison of different solvents for isolation of phenolic compounds from horseradish (*Armoracia rusticana* L.) leaves”. Annual 19th International Scientific Conference „Research for Rural Development”, Jelgava, 2013. gada 15.–17. maijā. (Mutiskais referāts / *oral presentation.*)
  9. **Tomsone L.**, Kruma Z., Talou T., Galoburda R. (2012) Composition of volatile compounds of horseradish roots (*Armoracia rusticana* L.) depending on genotype. 43rd International Symposium on Essential Oils (ISEO2012), Lisabona, 2012. gada 5.–8. septembrī. (Stenda referāts / *poster presentation.*)
  10. **Tomsone L.**, Kruma Z., Talou T., Galoburda R. (2012) „Microwave and ultrasound-assisted extraction of polyphenols from horseradish (*Armoracia rusticana* L.) roots”. 8th International Conference on Renewable Resources and Biorefineries, Tulūza, 2012. gada 4.–6. jūnijā. (Stenda referāts / *poster presentation.*)
  11. **Tomsone L.**, Kruma Z. (2012) „Vitamin C as natural antioxidant of horseradish”. 7th International Scientific Conference “Students on their Way to Science”, Jelgava, 2012. gada 25. maijā. (Mutiskais referāts / *oral presentation.*)
  12. **Tomsone L.**, Kruma Z., Alsina I., Lepse L. (2012) „The application of hierarchical cluster analysis to clasify genotypes of horseradish (*Armoracia rusticana* L) roots”. 7th Baltic Conference on Food Science and Technology, “Innovative and healthy food for consumers”, Kauņa, 2012. gada 17.–18. maijā. (Stenda referāts / *poster presentation.*)
  13. **Tomsone L.**, Kruma Z., Lepse L. (2012) „Influence of genotype and harvest time on the phenolic content of horseradish (*Armoracia rusticana* L) roots”. Annual 18th International Scientific Conference „Research for Rural Development”, Jelgava, 2012. gada 18.–20. maijā. (Mutiskais referāts / *oral presentation.*)
  14. **Tomsone L.**, Kruma Z., Galoburda R. (2012) „Comparison of different solvents and extraction methods for isolation of phenolic compounds from horseradish roots (*Armoracia rusticana*)”. *World Academy of Science, Engineering and Technology*, Francija, Parīze, 2012. gada 24.–27. aprīlī. (Mutiskais referāts / *oral presentation.*)

## ANOTATION

Doctoral thesis by Lolita Tomsone „ Investigation of biologically active substances in horseradish and lovage” has been worked out from 2011 to 2015 at the Department of Food Technology – in the Packaging Material’s, Attributes Research laboratory, food analysis, natural substances, organic chemistry and at the Toulouse National Polytechnic Institute of Agro-Industry chemistr laboratory.

The **research object** of the thesis is horseradish (*Armoracia rusticana* L.) and lovage grown in Latvia (*Levisticum officinale* L.).

The **hypothesis** of the doctoral thesis: the antioxidants in horseradish and lovage inhibit lipid oxidation.

The **goal** of the doctoral thesis is to evaluate biologically active substances of horseradish and lovage, their extraction and application opportunities.

To achieve the aim, the following **objectives** have been set:

1. to analyze the changes in chemical parameters of plant parts of different genotypes of horseradish and lovage depending on their harvest time;
2. to evaluate the most effective fresh horseradish and lovage treatment methods for the purpose of maintaining phenolic compounds and antioxidant activity;
3. to analyze the influence of solvent polarity on the content of phenols and antioxidant activity in horseradish and lovage extracts;
4. to evaluate the effect of microwave and ultrasound wave duration on the content of phenols and antioxidant activity in horseradish and lovage extracts;
5. to analyze the effect of increased temperature and pressure on the content of phenols and antioxidant activity in horseradish and lovage extracts;
6. to study the effect of horseradish and lovage extracts on oxidation of unrefined rapeseed oil.

The thesis is structured in three main chapters.

**Chapter 1.** The theoretical part includes the characteristics of biologically active compounds in horseradish and lovage, the characteristics of biological factors affecting biologically active compounds and the characteristics of changes in compounds due to treatment process, the characteristics of biologically active compounds as antioxidants, the characteristics of extraction methods of natural antioxidants.

**Chapter 2.** Materials and methods used in the doctoral thesis.

**Chapter 3.** The analysis of the research results and discussion of the effect of a genotype, the harvest time, a part of the plant, treatment process and the extraction condition on the natural antioxidants, the effect of additives of natural antioxidants on the quality of oil.

The main conclusions are defined in the final part of the thesis.

The thesis is written in Latvian on 149 pages, including 43 tables, 33 figures, 13 appendixes. 318 scientific literature sources were used and analysed.

The research was supported by the National Research programme "Agriculture Resources for Sustainable Development for Qualitative and Healthy Food Development in Latvia (AgroBioRes)" (2014.–2017.), Project No4 "Sustainable Use of Local Agricultural Resources for Development of Qualitative and Healthy Food Products (PĀRTIKA)", as well as Project No. K24 "Comparison of Content and Properties of Currently Unused Aromatic Plants and Mushrooms in Latvia and Midi-Pirenees" (2012.–2013.) within the framework of the cooperation programme between Latvia and France in science and technology development areas "OSMOZE".

### **APPROBATION OF THE RESEARCH**

The results of the research were summarized and published in 2 subchapters of a monograph, and 11 peer reviewed scientific publications.

The results of the research have been presented in 13 international scientific conferences and congresses in Latvia, Lithuania, Estonia, Greece, Portugal, France, Macedonia, Russia, the exhibitions "Riga Food 2013", "Riga Food 2014" (the list of publications and attended conferences see on pages 3–5).

## SATURS / CONTENTS

ANOTĀCIJA.....	2
ANOTATION.....	6
Darbā ievietoto tabulu saraksts / <i>List of inserted tables</i> .....	10
Darbā ievietoto attēlu saraksts / <i>List of inserted figures</i> .....	14
Promocijas darbā lietoto apzīmējumu un saīsinājumu skaidrojums / <i>Explanation of abbreviations and nomenclature used in the thesis</i> .....	17
IEVADS / <i>INTRODUCTION</i> .....	19
1. PROBLEMĀTIKAS RAKSTUROJUMS / <i>DESCRIPTION OF PROBLEMS</i> .....	22
1.1. Mārrutku un lupstāju bioloģiski aktīvo vielu raksturojums / <i>Characterization of horseradish and lovage biologically active substances</i> .....	22
1.1.1. Augu bioloģiski aktīvie savienojumi / <i>Biologically active compounds in plants</i> .....	22
1.1.2. Fenolu savienojumi / <i>Phenolic compounds</i> .....	23
1.1.3. Vitamīni / <i>Vitamins</i> .....	26
1.1.4. Gaistošie savienojumi / <i>Volatile compounds</i> .....	27
1.2. Bioloģiski aktīvos savienojumus ietekmējošie faktori / <i>Factors influencing content of bioactive compounds</i> .....	29
1.2.1. Bioloģiski aktīvos savienojumus ietekmējošie bioloģiskie faktori / <i>Biological factors influencing content of bioactive compounds</i> .....	29
1.2.2. Bioloģiski aktīvo savienojumu izmaiņas augu apstrādes procesos / <i>Changes                 of biologically active compounds of plants during their processing</i> .....	30
1.3. Bioloģiski aktīvo savienojumu kā antioksidantu nozīme / <i>Importance of biologically active compounds as antioxidants</i> .....	32
1.3.1. Pārtikas oksidēšanās / <i>Food oxidation</i> .....	32
1.3.2. Pārtikas oksidēšanās kavēšana / <i>Food oxidation inhibition</i> .....	34
1.3.3. Fenolu savienojumu antioksidatīvās īpašības / <i>Antioxidant properties of phenolic compounds</i> .....	37
1.3.4. Antioksidantu aktivitātes novērtēšanas metodes / <i>Methods for evaluation of antioxidant activity</i> .....	40
1.4. Dabīgo antioksidantu izdalīšana / <i>Isolation of natural antioxidants</i> .....	41
1.4.1. Cietu vielu ekstrakciju ietekmējošie faktori / <i>Factors affecting solids extraction</i> .....	42
1.4.2. Cieto vielu ekstrakcijas metodes / <i>Solids extraction methods</i> .....	43
1.4.3. Ekstraktu izmantošana eļļas stabilitātes uzlabošanai / <i>Application of extracts for oil sustainability</i> .....	47
Problemātikas apskata kopsavilkums.....	48
<i>Problem description</i> .....	48
2. MATERIĀLI UN METODES / <i>MATERIALS AND METHODS</i> .....	50
2.1. Pētījuma laiks un vieta / <i>Time and place of the research</i> .....	50
2.2. Materiālu raksturojums / <i>Description of the materials</i> .....	50
2.2.1. Mārrutki / <i>Horseradish</i> .....	50
2.2.2. Lupstāji / <i>Lovage</i> .....	51
2.2.3. Eļļas raksturojums / <i>Characterization of oil</i> .....	51
2.3. Pētījuma struktūra / <i>Structure of the research</i> .....	51
2.4. Pētījumā izmantoto analīžu metožu raksturojums / <i>Description of analysis methods used in the research</i> .....	60



2.5. Datu matemātiskā apstrāde / <i>Mathematical processing and interpretation of data</i> .....	64
3. REZULTĀTI UN DISKUSIJA / <i>RESULTS AND DISCUSSION</i> .....	65
3.1. Nozīmīgāko bioloģiski aktīvo savienojumu un to antioksidatīvās aktivitātes izvērtējums mārrutkos un lupstājos / <i>Assessment of horseradish and lovage main bioactive compounds and their antioxidative activity</i> .....	65
3.1.1. Nozīmīgāko bioloģiski aktīvo savienojumu un to antioksidatīvās aktivitātes izvērtējums mārrutkos / <i>Assessment of horseradish main bioactive compounds and their antioxidative activity</i> .....	65
3.1.2. Lupstāju galveno bioloģiski aktīvo savienojumu un to antioksidatīvās aktivitātes izvērtējums / <i>Assessment of lovage main bioactive compounds and their antioxidative activity</i> .....	75
3.1. nodaļas kopsavilkums.....	80
<i>Summary of Chapter 3.1</i> .....	82
3.2. Bioloģiski aktīvo savienojumu satura un antioksidantu aktivitātes izmaiņas mārrutkos un lupstājos tehnoloģisko procesu ietekmē / <i>Comparison of biologically active compounds of horseradish and lovage, and assessment of their antioxidative activity affected by treatment</i> .....	83
3.2.1. Konvencionālo apstrādes veidu ietekmes izvērtējums / <i>Assessment of effect of conventional type of treatment</i> .....	83
3.2.2. Mikroviļņu-vakuuma un sublimācijas kaltēšanas procesa ietekmes izvērtējums / <i>Assessment of effect of microwave-vacuum and freeze-dried</i> .....	89
3.2. nodaļas kopsavilkums.....	92
<i>Summary of Chapter 3.2</i> .....	92
3.3. Ekstrakcijas apstākļu ietekmes salīdzinājums uz bioloģiski aktīvo savienojumu saturu mārrutku un lupstāju ekstraktos / <i>Comparison of biologically active compounds of horseradish and lovage and assessment of their antioxidative activity affected by condition of extraction</i> ...	93
3.3.1. Ekstrakcijas šķīdinātāju ietekmes izvērtējums / <i>Assessment of effect of the extraction solvents</i> .....	93
3.3.2. Mikroviļņu un ultraskaņas ietekmes izvērtējums / <i>Assessment of the evaluation of microwave and ultrasound</i> .....	101
3.3.3. Ekstrakcijas temperatūras un spiediena ietekmes izvērtējums / <i>Assessment of the effect of the extraction temperature and pressure</i> .....	106
3.3. nodaļas kopsavilkums.....	112
<i>Summary of Chapter 3.3</i> .....	113
3.4. Pievienoto mārrutku un lupstāju ekstraktu ietekmes izvērtējums uz eļļas oksidēšanās kavēšanu / <i>Assessment of impact of horseradish and lovage extract additive on inhibition of oil oxidation</i> .....	114
3.4. nodaļas kopsavilkums.....	123
<i>Summary of Chapter 3.4</i> .....	124
SECINĀJUMI.....	125
IETEIKUMI RAŽOTĀJIEM.....	125
CONCLUSION.....	126
PROPOSALS.....	126
INFORMĀCIJAS AVOTI / <i>INFORMATION SOURCES</i> .....	127
PIELIKUMI / <i>APPENDIXES</i> .....	149

**Darbā ievietoto tabulu saraksts / List of inserted tables**

<b>Tabulas numurs / Table number</b>	<b>Tabulas nosaukums / Table title</b>	<b>Lpp. / Page</b>
1.1.	Bioloģiski aktīvo vielu klases un to avoti pārtikā / <i>Classes of biologically active compounds and their sources in food</i>	23
1.2.	Mārrutku sakņu un brokoļu ziedkopu glikozinolātu sastāvs / <i>Glucosinolate profile of horseradish roots and broccoli florets, <math>\mu\text{mol g}^{-1}</math> sausnas / DW</i>	29
1.3.	Aktīvais skābeklis un radniecīgie savienojumi / <i>Active oxygen and related species</i>	33
1.4.	Taukos un eļļās atļautie antioksidanti / <i>Permitted synthetic antioxidants in foods</i>	35
1.5.	Antioksidantu aktivitātes mehānismi un aktīvie savienojumi / <i>Mechanisms of antioxidant activity</i>	37
2.1.	Mārrutku un lupstāju genotipu izcelsme / <i>Origin of horseradish and lovage genotypes</i>	50
2.2.	Dažādi apstrādātu mārrutku un lupstāju paraugu apzīmējumi / <i>Sample codes used in a study of determining the effects of treatment on horseradish and lovage</i>	55
2.3.	Ekstrakcijās izmantotie šķīdinātāji / <i>Solvents used for extraction</i>	56
2.4.	Ekstrakcijas apstākļi / <i>Extraction conditions</i>	57
2.5.	Paraugu apzīmējumi ekstrakcijas parametru ietekmes noteikšanai mārrutku un lupstāju ekstraktos / <i>Sample codes used in a study of determining the effects of extraction parameters of horseradish and lovage extracts</i>	57
2.6.	Paraugu apzīmējumi pievienoto augu ekstraktu efektivitātes noteikšanai nerafinētā rapšu eļļā / <i>Sample codes used in a study of added herbal extract efficiency in crude rapeseed oil</i>	59
2.7.	Mārrutku, lupstāju un eļļas paraugu analīzēm izmantotie standarti un metodes / <i>Standards and methods used in analyses of samples of horseradish, lovage and oil</i>	60
3.1.	KFS un KFIS mārrutku genotipa GJ lapās dažādos novākšanas laikos / <i>TPC and TFC of horseradish leavess of genotype GJ by different harvest times</i>	66
3.2.	KFS mārrutku saknēs dažādos novākšanas laikos / <i>TPC of horseradish roots by different harvest times, mg GAE 100 g<sup>-1</sup> sausnas / DW</i>	67
3.3.	KFIS un atsevišķo fenolu savienojumu saturs dažāda genotipa mārrutku saknēs / <i>TFC of horseradish roots dependent on the genotype</i>	68

<b>Tabulas numurs / Table number</b>	<b>Tabulas nosaukums / Table title</b>	<b>Lpp. / Page</b>
3.4.	Mārrutku sakņu sadalījums klasteros pēc galveno gaistošo savienojumu satura / <i>Horseradish root distribution of clusters at the main volatile compounds, (smaiļu laukums, % kopējā laukuma / peak area % of the total area)</i>	71
3.5.	ArA dažādu genotipu mārrutku lapās un saknēs / <i>SA in different genotypes of horseradish leaves and stems, mM TE 100 g<sup>-1</sup> sausnas / DW</i>	72
3.6.	DPPH <sup>·</sup> radikāļu saistīšanas aktivitāte mārrutku saknēs dažādos novākšanas laikos / <i>DPPH<sup>·</sup> scavenging activity (SA) of horseradish roots by different harvest times, mM TE 100 g<sup>-1</sup> sausnas, DW</i>	73
3.7.	KFS un KFIS lupstāju genotipa L4 kātos un lapās dažādos novākšanas laikos / <i>TPC and TFC of lovage stems and leaves of genotype L4 by different harvest times</i>	76
3.8.	Lupstāju genotipa L4 lapu un kātu AA dažādos novākšanas laikos / <i>Antioxidant activity of lovage leaves and stems of genotype L4 by different harvest times</i>	78
3.9.	Mārrutku un lupstāju piemērotākais novākšanas laiks maksimālo rādītāju iegūšanai / <i>Appropriate harvest time of horseradish and lovage to obtain the maximum performance</i>	79
3.10.	Dažādu genotipu mārrutku un lupstāju sadalījums klasteros pēc fenolu savienojumu satura un AA / <i>Distribution of different genotypes of horseradish and lovage in clusters by content of phenolic compounds and AA</i>	80
3.11.	KFS un KFIS mārrutku lapās, lupstāju lapās un kātos apstrādes veida ietekmē / <i>TPC and TFC in horseradish leaves, lovage leaves and stems, depending on the type of treatment</i>	84
3.12.	Atsevišķu fenolu saturs mārrutku lapās, lupstāju lapās un kātos atkarībā no apstrādes veida / <i>Content of individual phenols in horseradish leaves, lovage leaves and stems depending on treatment, mg 100 g<sup>-1</sup> sausnas / DW</i>	87
3.13.	AA mārrutku lapās, lupstāju lapās un kātos atkarībā no apstrādes veida / <i>AA in horseradish leaves, lovage leaves and stems depending on treatment</i>	88
3.14.	Korelācijas matrica starp saldētu un kaltētu lupstāju kātu KFS, KFIS un AA / <i>Correlation matrix between TPC, TFC and AA of frozen and dried lovage stems</i>	89
3.15.	KFS un KFIS dažādi apstrādātās mārrutku saknēs / <i>TFC and TPC in the horseradish roots depending on treatment</i>	90
3.16.	AA dažādi apstrādātās mārrutku saknēs / <i>Antioxidant activity of the horseradish roots depending on the type of treatment</i>	91

<b>Tabulas numurs / Table number</b>	<b>Tabulas nosaukums / Table title</b>	<b>Lpp. / Page</b>
3.17.	Dažādi apstrādātu mārrutku un lupstāju sadalījums klasteros pēc fenolu savienojumu satura un AA / <i>Distribution of horseradish and lovage in clusters by content of phenolic compounds and AA depending on treatment</i>	92
3.18.	Ekstrakcijas šķīdinātāja un metodes ietekme uz KFS mārrutku sakņu ekstraktos / <i>TPC of extracts of horseradish roots depending on extraction solvent and method, mg GAE 100 g<sup>-1</sup> sausnas / DW</i>	95
3.19.	Ekstrakcijas šķīdinātāja un metodes ietekme uz AA mārrutku lapu ekstraktos / <i>Antioxidant activity of horseradish leaves depending on extraction solvent and method</i>	97
3.20.	Ekstrakcijas šķīdinātāja un metodes ietekme uz DPPH <sup>·</sup> radikāļu saistīšanas aktivitāti mārrutku sakņu ekstraktos / <i>SA of extracts of horseradish roots depending on extraction solvent and method, mM TE 100 g<sup>-1</sup> sausnas / DW</i>	97
3.21.	Korelācijas matrica starp AA, KFS un KFIS dažādu šķīdinātāju mārrutku un lupstāju ekstraktos / <i>Correlation matrix among the AA, TPC and TFC in the horseradish and lovage extract of different solvent</i>	99
3.22.	Piemērotākie šķīdinātāji mārrutkiem un lupstājiem, lai iegūtu ekstraktus ar augstāku fenolu saturu un AA / <i>Suitable solvents for horseradish and lovage to obtain extracts with higher phenol content and AA</i>	100
3.23.	UAE ilguma ietekme uz AA mārrutku lapu ekstraktos / <i>Effect of UAE time on content of AA of horseradish leaves</i>	102
3.24.	Korelācijas matrica starp KFS, KFIS un AA mārrutku genotipa GJ lapu UAE un MAE ekstraktos / <i>Correlation matrix between TPC, TFC and AA in UAE and MAE extracts of horseradish genotype GJ leaves</i>	105
3.25.	Optimālais UAE un MAE ilgums mārrutkiem un lupstājiem, lai iegūtu ekstraktus ar augstāku fenolu saturu un AA / <i>Optimal time of UAE an MAE for horseradish and lovage to obtain extracts with higher phenol content and AA</i>	106
3.26.	Fenolu savienojumu satura atšķirības dažādos temperatūras un spiediena režīmos ekstrahētos mārrutku un lupstāju ekstraktos / <i>Variations in content of phenolic compounds in horseradish and lovage extracts obtained under different temperature and pressure regimes</i>	107
3.27.	AA atšķirības dažādos temperatūras un spiediena režīmos ekstrahētos mārrutku un lupstāju ekstraktos / <i>Variations in AA of horseradish and lovage extracts obtained under different temperature and pressure regimes</i>	108
3.28.	Ekstrakcijas metožu un parametru ranžējums / <i>Ranking of extraction methods and parameters</i>	110

<b>Tabulas numurs / Table number</b>	<b>Tabulas nosaukums / Table title</b>	<b>Lpp. / Page</b>
3.29.	Korelācijas matrica starp KFS, KFIS un AA etanola ekstraktos / <i>Correlation matrix between TPC, TFC and AA in ethanol extracts</i>	111
3.30.	Piemērotākās metodes, lai iegūtu mārrutku un lupstāju etanola ekstraktus ar augstāku fenolu saturu un AA / <i>Suitable methods to obtain ethanol extracts of horseradish and lovage with higher phenol content and AA</i>	112
3.31.	Dažādos apstākļos ekstrahētu mārrutku un lupstāju ekstraktu sadalījums klāstros pēc fenolu savienojumu satura un AA / <i>Distribution of horseradish and lovage extracts obtained under different conditions in clusters by content of phenolic compounds and AA depending on the treatment</i>	113

**Darbā ievietoto attēlu saraksts / List of inserted figures**

<b>Attēla numurs / Figure number</b>	<b>Attēla nosaukums / Figure title</b>	<b>Lpp. / Page</b>
1.1.	C vitamīna prooksidantu ķīmiskās reakcijas / <i>Pro-oxidant chemistry of vitamin C</i>	27
1.2.	Glikozinolātu pamatstruktūras formula / <i>Basic structural formula of glucosinolates</i>	28
1.3.	Radikāļu inaktivēšana ar flavonoīdiem (a), metālu jonu piesaistes vietas (b) / <i>Scavenging of reactive oxygen species (R<sup>•</sup>) by flavonoid.(a), binding sites for trace metals (b)</i>	38
2.1.	Pētījuma struktūra / <i>Structure of the research</i>	52
2.2.	Pētījuma pirmā posma struktūra / <i>Structure of the first stage of experiment</i>	53
2.3.	Pētījuma otrā posma struktūra / <i>Structure of the second stage of experiment</i>	54
2.4.	Pētījuma trešā posma struktūra / <i>Structure of the third stage of experiment</i>	56
2.5.	Pētījuma ceturtnā posma struktūra / <i>Structure of the fourth stage of experiment</i>	59
3.1.	Kopējo fenolu saturs dažāda genotipa mārrutku lapās / <i>Total phenolic content of horseradish leaves dependent on the genotype</i>	65
3.2.	Kopējais flavonoīdu saturs dažāda genotipa mārrutku lapās / <i>Total flavonoids content of horseradish leaves dependent on the genotype</i>	67
3.3.	C vitamīna saturs svaigās dažāda genotipa mārrutku saknēs / <i>Content of vitamin C in fresh horseradish roots dependent on the genotype</i>	69
3.4.	Kopējo identificēto gaistošo savienojumu relatīvo smaīļu laukumi dažāda genotipa mārrutku saknēs / <i>Relative peak area of the volatile compounds of horseradish roots depending on the genotype.</i>	70
3.5.	Antiradikālā aktivitāte genotipa GJ mārrutku lapās dažādos novākšanas laikos / <i>Scavenging activity of horseradish leaves of genotype GJ by different harvest times</i>	73
3.6.	Reducēšanas spēja dažādu genotipu mārrutku lapās un saknēs / <i>Reducing power of horseradish leaves and roots dependent on the genotype</i>	74
3.7.	Kopējais fenolu saturs svaigos lupstājos / <i>Total phenolic content of fresh lovage</i>	76
3.8.	Kopējais flavonoīdu saturs svaigos lupstājos / <i>Total flavonoid content of fresh lovage</i>	77

<b>Attēla numurs / Figure number</b>	<b>Attēla nosaukums / Figure title</b>	<b>Lpp. / Page</b>
3.9.	Lupstāju antiradikālā aktivitāte pēc DPPH <sup>·</sup> un ABTS <sup>·+</sup> dažādās auga daļās / <i>Scavenging activity of lovage by DPPH<sup>·</sup> and ABTS<sup>·+</sup>, depending on the parts of the plant</i>	79
3.10.	Reducēšanas spēja dažādās lupstāju auga daļās / <i>Reducing power of lovage depending on the parts of the plant</i>	79
3.11.	Kafijskābes un hlorogēnskābes izmaiņas konvencionālo apstrādes procesu ietekmē / <i>Changes of coffeic acid and chlorogenic acid content as a result of the conventional methods of treatment</i>	85
3.12.	Rutīna izmaiņas konvencionālo apstrādes procesu ietekmē / <i>Changes of rutin content as a result of the conventional methods of treatment</i>	85
3.13.	Atsevišķo fenolu saturs izmaiņas mārrutku saknēs apstrādes ietekmē / <i>Changes of content of individual phenols of horseradish roots depending on treatment</i>	90
3.14.	Šķīdinātāja ietekme uz fenolu saturu mārrutku lapu ekstraktos / <i>Total phenolic content in horseradish leaves depending on solvent</i>	94
3.15.	Kopējais flavonoīdu saturs mārrutku lapu ekstraktos atkarībā no šķīdinātāja / <i>Total flavonoids content in horseradish leaves depending on solvent</i>	96
3.16.	UAE ekstrakcijas ilguma ietekme uz KFS un KFIS mārrutku lapu ekstraktos / <i>Effect of UAE extraction time on the TPC and TFC of horseradish leaves extracts</i>	102
3.17.	MAE ekstrakcijas ilguma ietekme uz KFS un ArA mārrutku sakņu ekstraktos / <i>Effect of MAE extraction time on the TPC and scavenging activity of horseradish roots</i>	103
3.18.	MAE ekstrakcijas ilguma ietekme uz fenolu savienojumu saturu un AA mārrutku lapu ekstraktos / <i>Effect of MAE extraction time on the content of phenolic compounds and AA of horseradish leaves</i>	104
3.19.	Kopējās krāsu intensitātes izmaiņas eļļas paraugiem ar pievienotiem ekstraktiem un sintētisko antioksidantu / <i>Color intensity of oil samples with added extracts and synthetic antioxidant</i>	114
3.20.	Rapšu eļļas peroksīdu skaitļa izmaiņas, uzglabājot tumsā 60±1 °C temperatūrā / <i>Changes of rapeseed oil peroxide value stored in dark at 60±1 °C temperature</i>	116
3.21.	Rapšu eļļas skābes skaitļa izmaiņas, uzglabājot tumsā 60±1 °C temperatūrā / <i>Changes of rapeseed oil acid value stored in dark at 60±1 °C temperature</i>	117
3.22.	Rapšu eļļas antiradikālās aktivitātes izmaiņas, uzglabājot tumsā 60±1 °C temperatūrā / <i>Changes of rapeseed oil scavenging activity stored in dark at 60±1 °C temperature</i>	119

<b>Attēla numurs / Figure number</b>	<b>Attēla nosaukums / Figure title</b>	<b>Lpp. / Page</b>
3.23.	Rapšu eļļas peroksīdu skaitļa izmaiņas, uzglabājot 22±1 °C temperatūrā / <i>Changes of rapeseed oil peroxide value stored at 22±1 °C temperature</i>	120
3.24.	Rapšu eļļas skābes skaitļa izmaiņas, uzglabājot 22±1 °C temperatūrā / <i>Changes of rapeseed oil acid value stored at 22±1 °C temperature</i>	121
3.25.	Rapšu eļļas antiradikālās aktivitātes izmaiņas, uzglabājot 22±1 °C temperatūrā / <i>Changes of rapeseed oil scavenging activity stored at 22±1 °C temperature</i>	123



**Promocijas darbā lietoto apzīmējumu un saīsinājumu skaidrojums /  
Explanation of abbreviations and nomenclature used in the Doctoral thesis**

AA	antioksidantu aktivitāte / <i>antioxidant activity</i>
ArA / SA	antiradikālā aktivitāte / <i>scavenging activity</i>
AAE	askorbīnskābes ekvivalents / <i>ascorbic acid equivalent</i>
ABTS	2,2-azino-bis (3-etilbenzthiazolina-6-sulfonskābe) / <i>2,2-azino-bis (3-ethylbenzthiazoline-6-sulfonic acid)</i>
AC	acetons / <i>acetone</i>
AEŠH / HPLC	augstefektīva šķidrums hromatogrāfija / <i>high-performance liquid chromatography</i>
AITC	alilizotiocianāts / <i>allylithiocyanate</i>
ANOVA	dispersijas analīze / <i>analysis of variance</i>
ASE	paātrinātā ekstrakcija / <i>accelerated solvent extraction</i>
BHA	butilhidroksianizols / <i>butylatedhydroxyanisole</i>
BHT	butilhidroksitoluols / <i>butylatedhydroxytoluene</i>
BITC	benzilizotiocianāts / <i>benzylisothiocyanate</i>
BuITC	butilizotiocianāts / <i>butylisothiocyanate</i>
CE	katehīna ekvivalents / <i>catechine equivalent</i>
CONV	konvencionālā ekstrakcija / <i>conventional extraction</i>
CPITC	ciklopentilizotiocianāts / <i>cyclopentylisothiocyanate</i>
D	kaltēšana / <i>drier</i>
DAS	dialilsulfāts / <i>diallylsulfide</i>
DI	dietilēteris / <i>diethylether</i>
DPPH	2,2-difenil-1-pikrilhidrazils / <i>2,2-diphenyl-1-picrylhydrozyl</i>
DW	sausna / <i>dry weight</i>
EN	epitionitrils / <i>epithionitrile</i>
ET	etanols / <i>ethanol (95%)</i>
EW	etanols/ūdens maisījums / <i>ethanol/water (80/20 v/v)</i>
EWA	etanola/ūdens/etiķskābes maisījums / <i>ethanol/water/aceticacid (80/20/1 v/v/v)</i>
F	saldēšana / <i>freezing</i>
FD	sublimēts / <i>freeze-drying</i>
GAE	galluskābes ekvivalents / <i>gallicacid equivalent</i>
GH / GC	gāzu hromatogrāfs / <i>gas chromatograph</i>
HE	n-heksāns / <i>n-hexane</i>
iBuITC	izobutilizotiocianāts/ <i>isobutyl isothiocyanate</i>
ITC	izotiocianāts / <i>isothiocyanate</i>
KFS / TPC	kopējais fenolu saturs / <i>total phenolic content</i>
KFIS / TFC	kopējais flavonoīdu saturs / <i>total flavonoid content</i>
LLU	Latvijas Lauksaimniecības universitāte / <i>Latvia University of Agriculture</i>
LOX	lipoksiģenāze / <i>lipoxygenase</i>
lpp. / p.	lappuse / <i>page</i>
LVS	Latvijas valsts standarts / <i>Latvian Standard</i>
MAE	mikroviļņu veicināta ekstrakcija / <i>microwave assisted extraction</i>

meq O <sub>2</sub> kg <sup>-1</sup>	mili ekvivalenti aktīvā skābekļa kilogramā eļļas / <i>milliequivalents of active oxygen per kilogram of oil</i>
mg	miligrami / <i>milligram</i>
mg KOH g <sup>-1</sup>	miligrami kālija hidroksīda vienā gramā eļļas / <i>milligrams of potassium hydroxide per gram of oil</i>
mg 100 g <sup>-1</sup>	miligrami 100 gramos produkta / <i>milligrams per 100 grams of the product</i>
MITC	metilzotiocianāts / <i>methyl isothiocyanate</i>
mM TE 100 g <sup>-1</sup> sausnas / DW	milimoli troloksa ekvivalenta 100 gramos sausnas / <i>mmoles trolox equivalent 100 grams of the DW</i>
MVD	mikroviļņu-vakuuma kalte / <i>microwave-vacuum drier</i>
n.a.	nav analizēts / <i>notanalyzed</i>
n.i.	nav identificēts / <i>notidentified</i>
nm	nanometri / <i>nanometers</i>
Nr. p. k. / No	numurs pēc kārtas / <i>numbers insequential order</i>
<sup>1</sup> O <sub>2</sub>	singlets oksīds / <i>singlet oxygen</i>
O <sub>2</sub> <sup>•-</sup>	superoksīda anjona radikālis / <i>superoxide anion radical</i>
ONOO <sup>-</sup>	peroksinitrīts / <i>peroxynitrite</i>
p	p-vērtība / <i>p-value</i>
Pa	paskāls / <i>pascal</i>
PE	polietilēns / <i>polyethylene</i>
PEITC	feniletilizotiocianāts / <i>phenylethylisothiocyanate</i>
PET	polietilēntereftalāts / <i>polyethyleneterephthalate</i>
PETC	fenetiltiocianāts / <i>phenethylthiocyanate</i>
pH	negatīvais logaritms no ūdeņraža jonu koncentrācijas / <i>the negative logarithm of the hydrogen ion concentration</i>
ppm	viena miljonā daļa / <i>parts per million</i>
PPTC	fenilpropiltiocianāts / <i>phenylpropylthiocyanate</i>
PR	2-propanols / <i>2-propanol</i>
PS / PV	peroksīdu skaitlis / <i>peroxide vlue</i>
r	korelācijas koeficients / <i>correlation coefficient</i>
RO <sup>•</sup>	alkoksilradikālis / <i>alkoxyl radical</i>
ROO <sup>•</sup>	peroksilradikālis / <i>peroxilradical</i>
ROS	aktīvā skābekļa formas / <i>reactive oxygen species</i>
RS / RP	reducēšanas spēja / <i>reducing power</i>
RSL / RPA	relatīvo smaīļu laukuma / <i>relative peak area</i>
RT	aiztures laiks / <i>retention time</i>
SOXE	Soksleta ekstrakcija / <i>Soxhlet extraction</i>
SSk / AV	skābes skaitlis / <i>acid value</i>
SUB	zemkritiskā stāvokļa šķidrums ekstrakcija / <i>subcritical extraction</i>
SWE	zemkritiskā ūdens ekstrakcija / <i>subcritical water extraction</i>
TE	troloksa ekvivalents / <i>trolox equivalent</i>
TC	tiocianāts / <i>thiocyanate</i>
TBHQ	tetrabutilhdrohinons / <i>tertbutylhydroquinone</i>
UAE	ultraskaņas veicināta ekstrakcija / <i>ultrasound assisted extraction</i>
u.c. / et al.	un citi / <i>and others</i>
UV	ultraviolets / <i>ultraviolet</i>

## IEVADS / INTRODUCTION

Mūsdienās, patērētājiem kļūstot arvien zinošākiem par dabiskas izcelsmes bioloģiski aktīvo savienojumu lietošanu, tuvākajā nākotnē šie savienojumi var iegūt ievērojamu ekonomisko nozīmi. Līdz ar to gan tiek meklēti jauni, gan apzināti vietējie, katram reģionam raksturīgie, bet plaši neizmantojie augi.

Latvijā ir atrodams plašs spektrs dažādu augu, daļa no tiem sastopami tikai savvaļā, bet daļa tiek kultivēti. Mārrutki (*Armoracia rusticana* L., dzimta: *Brassicaceae*) un lupstāji (*Levisticum officinale* L., dzimta: *Umbelliferae*) ir tipiski Latvijas aromātiskie augi, kuri nav prasīgi attiecībā uz audzēšanas apstākļiem. Mārrutki ir samērā populāri arī mūsdienās, bet lupstāju popularitāte ir samazinājusies. Šie augi izsenis tika izmantoti kā ārstniecības augi ar plašu pielietojumu dažādu slimību ārstēšanai (Raghavan, 2000). Ir plaši pētījumi, kas apliecina, ka citi šo dzimtu augi (kāposti, rāceņi, rapši, kāļi, sinepes, rutki, redīsi, pērkones u.c., kā arī dilles, pētersīļi, selerijas, koriandri, ķimenes, fenhels, gārša u.c.) satur daudzas bioloģiski aktīvas vielas ar antioksidatīvām, antimikrobiālām un antikancerogēnām īpašībām.

Daudzi bioloģiskie aktīvie savienojumi, kā fenoli (fenolskābes, flavonoīdi, flavoni), ēteriskās eļļas un citi, ir plaši sastopami augos (Naczka, Shahidi, 2004a). Bioloģiski aktīvo savienojumu funkcijas un sastāvs var svārstīties atkarībā no augu sugas, šķirnes, genotipa, paveida, novākšanas laika, auga daļas, kā arī klimatiskajiem apstākļiem (Naczka, Shahidi, 2006). Atsevišķi šie savienojumi vairāk sintezējas mērenā klimatā, kāds tas ir mūsu platuma grādos, kaut gan garšaugi var būt mazāk aromātiski, bet toties bagātāki ar bioloģiski aktīvajām vielām.

Neraugoties uz to, ka nav plašu pētījumu par mārrutku un lupstāju ķīmisko sastāvu, ir pamats domāt, ka arī šie augi satur antioksidantus, kurus nepieciešams izpētīt.

Augu ķīmiskais sastāvs spēj mainīties tehnoloģisko procesu (kaltēšana, saldēšana) ietekmē (Angela, Meireles, 2009). Literatūrā tikpat kā nav sastopami dati par mārrutku un lupstāju apstrādi mikroviļņu-vakuuma, kā arī sublimācijas kaltē. Svarīgi, ka, kaltējot pārtikas produktus šāda tipa kaltēs, ir iespējams lietot zemas apstrādes temperatūras, kā rezultātā samazinās bioloģiski aktīvo savienojumu termiskā degradācija.

Dažas bioloģiski aktīvo savienojumu klases uzrāda antioksidantu aktivitāti (Dykes, Rooney, 2007), un tos var izmantot kā oksidēšanos kavējošas vielas jeb antioksidantus (Halliwell, 1999; Shahidi, 2000; Zou, Akoh, 2015). No uzturzinātnes un tehnoloģiju viedokļa, lai kontrolētu oksidāciju, nodrošinot atbilstošu pārtikas kvalitāti, ir ļoti vēlams, pievienot antioksidantus (Pokorny, 2007).

Pēdējos gados ir novērota pieaugoša interese par augu izcelsmes piedevām (Brielman et al., 2006), liela uzmanība un centieni bijuši veltīti pētījumiem, kuru mērķis ir atrast jaunus dabīgas izcelsmes antioksidantus, kas darbojas tikpat efektīvi kā sintētiskie antioksidanti (Pokorny, 2007; Michiels et al., 2012).

Bioloģiski aktīvos savienojumus ietekmē arī ekstrakcijas apstākļi (Angela, Meireles, 2009), un to izolēšanai no augu materiāla tiek lietotas arvien jaunas, modernākas ekstrakcijas metodes – ultraskaņas veicināta ekstrakcija, mikroviļņu veicināta ekstrakcija, paātrinātā ekstrakcija, virskritiskā stāvokļa ekstrakcija, kā arī zemkritiskā stāvokļa ekstrakcija. Tās, salīdzinot ar tradicionālajām ekstrakcijas metodēm, izceļas ar īsāku ekstrakcijas laiku, zemāku ekstrakcijas temperatūru, mazāku ekstrakcijas šķīdinātāju tilpumu, selektivitāti utt., kas ļauj palielināt vēlamo savienojumu ekstrakcijas iznākumu un mazināt to dažāda veida degradāciju.

Pateicoties fenolu antioksidantu un antimikrobiālajām īpašībām, tos iespējams izmantot kā alternatīvu sintētiskajiem antioksidantiem. Tie izrāda aizsardzības un stabilizējošu ietekmi uz lipīdiem, pārtikas produktu krāsu un garšu. Fenolu savienojumiem ir liela strukturālā daudzveidība, kas atspoguļojas arī to atšķirīgajās bioloģiskajās funkcijās. Tādējādi augu ekstraktiem, kas atšķiras pēc to fenolu profila, var būt dažādi fizioloģiskie efekti (Valls et al., 2009; Kammerer et al., 2011).

Pētījumiem par pievienoto augu ekstraktu efektivitāti lipīdu stabilizēšanā pēdējos gados ir pievērsta liela uzmanība un tādu plaši pazīstamu garšaugu, kā oregano un rozmarīna, ekstrakti ir izrādījušies ļoti efektīvi (Bhale et al., 2007; Pawar et al., 2012). Līdz ar to ir svarīgi izpētīt vietējo augu īpašības un atrast iespējas to izmantošanai pārtikas produktu kvalitātes uzlabošanai.

Promocijas darba pētījuma **objekts** ir Latvijā audzēti mārrutki (*Armoracia rusticana* L.) un lupstāji (*Levisticum officinale* L.).

Promocijas darba **hipotēze** – mārrutkos un lupstājos esošie antioksidanti, kavē lipīdu oksidēšanos.

Promocijas darba **mērķis** ir izvērtēt mārrutku un lupstāju bioloģiski aktīvās vielas, to ekstrakcijas un izmantošanas iespējas.

Promocijas darba hipotēzi pierāda ar **aizstāvamajām tēzēm**:

1. genotips, auga daļa, un novākšanas laiks ietekmē mārrutku un lupstāju ķīmisko sastāvu;
2. saldētos mārrutkos un lupstājos saglabājas augstāks fenolu saturs un antioksidantu aktivitāte nekā kaltētos;
3. polāru šķīdinātāju izmantošana paaugstina flavonoīdu saturu un antioksidantu aktivitāti mārrutku un lupstāju ekstraktos;
4. mikroviļņu un ultraskaņas viļņu iedarbības laiks ietekmē fenolu saturu un antioksidantu aktivitāti mārrutku un lupstāju ekstraktos;
5. paaugstināta temperatūra un spiediens palielina fenolu saturu un antioksidantu aktivitāti mārrutku un lupstāju ekstraktos;
6. mārrutku un lupstāju ekstrakti ir efektīvāki antioksidanti nekā BHT.

Darba mērķa sasniegšanai izvirzīti šādi **uzdevumi**:

1. analizēt dažāda genotipa mārrutku un lupstāju augu daļu ķīmiskā sastāva izmaiņas atkarībā no novākšanas laika;
2. izvērtēt optimālos svaigu mārrutku un lupstāju apstrādes veidus fenolu savienojumu un antioksidantu aktivitātes saglabāšanai;
3. analizēt šķīdinātāja polaritātes ietekmi uz fenolu savienojumu saturu un antioksidantu aktivitāti mārrutku un lupstāju ekstraktos;
4. izvērtēt mikroviļņu un ultraskaņas viļņu iedarbības ilguma ietekmi uz fenolu savienojumu saturu un antioksidantu aktivitāti mārrutku un lupstāju ekstraktos;
5. analizēt paaugstinātas temperatūras un spiediena ietekmi uz fenolu savienojumu saturu un antioksidantu aktivitāti mārrutku un lupstāju ekstraktos;
6. pētīt mārrutku un lupstāju ekstraktu ietekmi uz nerafinētas rapšu eļļas oksidēšanos.

Promocijas darba **novitāte un zinātniskais nozīmīgums.**

1. Pirmoreiz veikti detalizēti pētījumi par Latvijā audzētu dažādu genotipu mārrutku un lupstāju dažādu augu daļu ķīmisko sastāvu atkarībā no novākšanas laika.
2. Izpētītas mārrutku un lupstāju fenolu savienojumu (rutīna, kafijskābes, hlorogēnskābes, katehīna u.c.) satura izmaiņas apstrādes procesu (saldēšanas, kaltēšanas mikroviļņu-vakuuma kaltē, sublimācijas) ietekmē.
3. Pētīta dažādu šķīdinātāju, ultraskaņas un mikroviļņu ietekmes ilguma, kā arī zemkritiskā stāvokļa un paātrinātā šķīdinātāja ekstrakcijas ietekme uz fenolu savienojumu saturu un dabīgo antioksidantu aktivitāti mārrutku un lupstāju ekstraktos.
4. Ir pierādīts, ka mārrutki un lupstāji ir potenciāls dabīgo antioksidantu ieguves avots.

Promocijas darba **tautsaimnieciskā** nozīme.

Latvijā audzētie mārrutki un lupstāji satur bioloģiski aktīvus savienojumus, kuri ir izmantojami ar dabīgiem antioksidantiem bagātu ekstraktu ieguvei. Mārrutku lapu, lupstāju lapu un kātu ekstrakti ir efektīvāki nerafinētas rapšu eļļas oksidēšanās kavētāji nekā sintētiskais antioksidants butilhidroksitoluols (BHT).

Pētījums veikts Valsts pētījumu programmas „Lauksaimniecības resursi ilgtspējīgai kvalitatīvas un veselīgas pārtikas ražošanai Latvijā (AgroBioRes)” (2014.–2017.), projekta Nr. 4. „Vietējo lauksaimniecības resursu ilgtspējīga izmantošana kvalitatīvu un veselīgu pārtikas produktu izstrādei (PĀRTIKA)”, kā arī Francijas un Latvijas sadarbības programma zinātnes un tehnoloģiju attīstības jomās “OSMOZE” projekta Nr. K24 „Latvijas un Vidus Pireneju aromātisko pašlaik neizmanto to aromātisko augu un sēņu sastāva un īpašību salīdzinājums” (2012.–2013.), ietvaros.

# 1. PROBLEMĀTIKAS RAKSTUROJUMS / *DESCRIPTION OF PROBLEMS*

## 1.1. Mārrutku un lupstāju bioloģiski aktīvo vielu raksturojums / *Characterization of horseradish and lovage biologically active substances*

**Mārrutki** (*Armoracia rusticana* L.) ir Eiropā populāri daudzgadīgi augi, kuri pieder krustziežu *Brassicaceae* dzimtai (Raghavan, 2000). Par mārrutku dzimteni var uzskatīt Austrumeiropu un Ziemeļeiropu, tie tiek kultivēti arī centrālajā Eiropā (Belitz et al., 2009). Tradicionāli Eiropā lietoja mārrutku saknes un lapas, lai ārstētu podagru, nierakmeņus, astmu un infekcijas slimības. Pirms tika atklāts C vitamīns, cingās ārstēšanai lietoja mārrutkus, kuriem piemīt antioksidatīvas un antimikrobiālas īpašības (Raghavan, 2000). Mārrutki ir diezgan populāri krustziežu dzimtas augi, bet izplatītākie šīs dzimtas augi ir kāposti, brokoļi, spināti, kāļi u.c. (Belitz et al., 2009).

Krustziežu dzimtas augi satur daudzas bioloģiski aktīvās vielas, kuras labvēlīgi iedarbojas uz organismu kā antikancerogēnas vielas (Medjakovic et al., 2011). Mārrutki tāpat kā citi krustziežu dzimtas augi satur fenolu savienojumus (Govere et al., 2007), gaistošos sēru saturošos savienojumus (Kloucek et al., 2012), kā arī fermentus – peroksidāzi (Mokdad et al., 2009) un mirozināzi (Belitz et al., 2009).

**Lupstāji** (*Levisticum officinale* L.) ir daudzgadīgi augi, kas pieder čemurziežu *Umbelliferae* vai *Apiaceae* dzimtai. Lupstāja izcelšanās vietas ir Austrumāzija, Ziemeļeiropa un Ziemeļamerika, bet tos galvenokārt kultivē Centrāleiropā. Lupstāju popularitāte ir ievērojami samazinājusies un populārākie šīs dzimtas pārstāvji ir selerijas, dilles, ķimenes, anīss, koriandrs, burkāni, fenhels, pastinaks, pētersīļi u.c. Eiropā pārtikas aromatizēšanai un uzglabāšanai tika lietotas lupstāju sēklas, lapas un saknes. Romieši lupstājus lietoja arī kā ārstniecības augus, lai mazinātu drudzi un ārstētu zobu slimības. Eiropieši tradicionāli lietoja lupstāju kā gremošanas stimulantu, kuņģa slimību novēršanai, ādas un ginekoloģisku problēmu ārstēšanai (Raghavan, 2000).

### 1.1.1. Augu bioloģiski aktīvie savienojumi / *Biologically active compounds in plants*

Vairāki uztura zinātnieki atzīmē, ka bioloģiski aktīvās vielas, kuras cilvēki uzņem ar pārtiku, var labvēlīgi ietekmēt veselību, bet tām var būt arī toksiskas iedarbības efekts (Gry et al., 2007). Vienas no svarīgākajām bioloģiski aktīvo vielu grupām pārtikas produktos ir fenolu savienojumi, šķiedrvielas, vitamīni, karotinoīdi, olbaltumvielas, no kurām lielākās augu bioloģiski aktīvo savienojumu klases apkopotas 1.1. tabulā.

Ir identificēti tūkstoši augu bioloģiski aktīvo vielu, starp kurām nozīmīgu vietu ieņem fenola savienojumi, gaistošie sēru saturošie savienojumi (glikozinolāti un citi), kā arī vitamīni (Gry et al., 2007).

Viena no pazīstamākajām bioloģiski aktīvo savienojumu grupām ir fenoli – sekundāro metabolītu grupa, kam piemīt daudzas fizioloģiskas īpašības (Peng et al., 2015). Šie savienojumi augu sastāvā ir plaši izplatīti un pēc ķīmiskās uzbūves ir ļoti daudzveidīgi. Fenoli ir aromātisko ogļūdeņražu atvasinājumi, kuriem aromātiskās sistēmās viens vai vairāki ūdeņraža atomi aizvietoti ar hidroksilgrupām (Khoddami et al., 2013).

**Bioloģiski aktīvo vielu klases un to avoti pārtikā /**  
**Classes of biologically active compounds and their sources in food** (Gry et al., 2007)

Savienojuma klase / Compounds class	Nozīmīgākie savienojumi / Main compounds	Pārtikas produkti / Food products
Flavonoīdi / Flavonoids		
Flavoni / Flavones	Apigenīns, luteolīns / Apigenin, luteolin	Selerijas, pētersīļi / Celery, parsley
Flavanoni / Flavanones	Naringenīns, hesperetīns / Naringenin, hesperetin	Citrus augļi / Citrus fruit
Flavonoli / Flavonols	Kvercetīns, kamferols / Quercetin, kaempferol	Sīpoli, tējas, zaļās pupiņas, tomāti / Onions, tea, green beans, tomatoes
Flavan-3-oli / Flavan-3-ols	(+)-Katehīns, (-)epikatehīns / (+)-Catechin, (-)epicatechin	Tēja, kakao, āboli, ogas, dažas pupas / Tea, cacao, apples, berries, certain beans
Antocianidīni / Anthocyanidins	Cianidīns / Cyanidin	Upenes, mellenes, zemenes / Blackcurrants, blueberries, strawberries
Izoflavoni / Isoflavones	Daidzeīns, genisteīns / Daidzein, genistein	Sojas pupas / Soy beans
Lignāni / Lignans	Sekoizolaricirezinols, matairezinols / Secoisolariciresinol, matairesinol	Linsēklas, augļi un dārzeņi / Linseed, fruits and vegetables
Fenolskābes / Phenolic acids	Ferulskābe, salicilskābe / Ferulic acid, salicylic acid	Kafija, graudaugu klijas, augļi / Coffee, cereal bran, fruits
Stilbēni / Stilbenes	Resveratrols / Resveratrol, trans-piceid	Vīnogas, zemesrieksti / Grapes, peanuts
Alk(en)il-cisteīn sulfoksīdi / Alk(en)yl-cysteine sulfoxides	S-metil-L-cisteīn sulfoksīds, S-propenil-L-cisteīn sulfoksīds / S-methyl-l-cysteine sulfoxide, S-propenyl-l-cysteine sulfoxide	Sīpoli, ķiploki, puravi / Onions, garlic, leeks
Kapsacionīdi / Capsaicinoids	Kapsaicīns, dihidrokapsaicīns / Capsaicin, dihydrocapsaicin	Čili / Chilli peppers
Karotinoīdi / Carotenoids	β-karotīns, likopēns, kriptaksantīns / β-carotene, lycopene, cryptaxanthine	Tomāti, burkāni, paprika / Tomatoes, carrots, bell peppers
Kumestāni / Coumestans	Kumestāns, kumestrols / Coumestan, coumestrol	Sojas pupas, mungpupas / Soya bean, mung bean
Dihidrohalkoni / Dihydrochalcones	Floretīns / Phloretin	Āboli / Apples
Glikozinolāti/izotiociānāti / Glucosinolates/isothiocyanates	Glikorafanīns / sulforafons / Glucoraphanin/sulphoraphane	Brokoļi, kāposti, Briseles kāposti / Broccoli, cabbage, Brussel's sprouts
Fitosterīni / Phytosterols	Kampostanols, sitostanols / Campostanol, sitostanol	Kvieši / Wheat
Poliacetilēni / Polyacetylenes	Falkarinols, falkarindiols / Falcarinol, falcarindiol	Burkāni, selerijas, pētersīļi / Carrots, celery, parsley

Fenoli ir vispārīgs apzīmējums, un termins „fenoli” aptver aptuveni 8000 dabiskas izcelsmes savienojumu (1. pielikums), kurus var klasificēt kā vienkāršos fenolus un polifenolus (Robbins, 2003; Dewick, 2001).

### 1.1.2. Fenolu savienojumi / Phenolic compounds

Augos fenolu savienojumi sintezējas no L-fenilalanīna un dažos gadījumos no L-tirozīna (Shahidi, 2000; 2002), un augu šūnās tiek sintezēti normālas attīstības stadijā, bet pastiprinātu to sintēzi var izraisīt biotiska vai abiotiska stresa apstākļi (mikrobiāla infekcija, mehāniskie ievainojumi vai ultravioletais (UV) starojums)

(Naczka, Shahidi, 2004a, 2006). Atšķirīgām augu fermentu sistēmām, kas iesaistītas fenolu biosintēzē, to profili būtiski atšķiras (Hilt et al., 2003), līdz ar to fenoliem piemīt plašas funkciju svārstības (Kammerer et al., 2012). Fenolu savienojumi pastāv kā monomēri aglikoni vai dažādās saistītās formās (Naczka, Shahidi, 2004a).

Flavonoīdi ir visbiežāk un plašāk sastopamā fenolu savienojumu grupa augos, kā arī lielākā sekundāro metabolītu grupa, kas iesaistīta daudzās augu bioloģiskajās funkcijās (Gupta et al., 2011). To pamata struktūra ir difenilpropāns, kas sastāv no diviem ārējiem benzola gredzeniem ar trīs oglekļu tiltiņu, kuru skeletu var raksturot kā C<sub>6</sub>-C<sub>3</sub>-C<sub>6</sub> sistēmu. Aptuveni 90% augu flavonoīdu ir sastopami kā glikozīdi, kuru ķīmiskās struktūras dažādība ir līdz pat 380 variācijām (Bravo, 1998). Ir aprakstīti vairāk nekā 5000 dažādu flavonoīdu (Harborne et al., 1999), bet pārtikas produktos izplatīti tādi flavonoīdi, kā flavonoli, flavoni, flavanoni, flavanoli (vai katehīni), flavanonoli, antocianidīni un izoflavoni (Hollman, Katan, 1999). Flavonoli ir plaši izplatīta flavonoīdu klase, kuras struktūras pamatā ir 3-hidroksiflavona skelets un tā ir bieži sastopama augļos un dārzeņos. To saturs plaši svārstās atkarībā no vides faktoriem, piemēram, augšanas apstākļiem, klimata, uzglabāšanas un apstrādes apstākļiem (Caridi et al., 2007).

Viens no izplatītiem bioloģiski aktīvajiem flavonoīdiem – rutīns, ir atrodams ievērojamā daudzumā dažādos augos, un tas tiek uzņemts ar dažādiem uzturā lietotajiem augļiem, dārzeņiem un augu valsts dzērieniem (piemēram, tēju un vīnu) (Attanassova, Christova-Bagdassarian, 2009; Pashikanti et al., 2010). Rutīnam piemīt pozitīvas fizioloģiskās un bioloģiskās īpašības, piemēram, antioksidatīvās, pretiekaisuma, antihipertensijas, vazokonstriktīvas, spazmolītiskas un pozitīvs inotropiskais efekts (Kuntić et al. 2007; Tobin et al., 2011). Šis fenolu savienojums nodrošina arī aizsardzību pret kuņģa bojājumiem, uzlabo redzi un dzirdi, aizsargā pret UV gaismu (Gaberscik et al., 2002), pazemina plazmas holesterīna līmeni (Kayashita et al., 1997), aizsargā no oksidatīvā stresa (Tobin et al., 2011), izraisa muskuļu hipertrofiju (Kayashita et al., 1997), kā arī samazina žultsakmeņu veidošanos un holesterīna līmeni (Kuntić et al., 2007). Rutīna un citu flavonoīdu biosintēze un uzkrāšanās augos tiek kontrolēta molekulārā līmenī ar strukturāliem un regulatīviem gēniem dažādās augu sugās (Pashikanti et al., 2010).

Fenolskābes ir apmēram viena trešdaļa no pārtikas fenoliem, it īpaši *p*-hidroksibenzoskābe, 3,4-dihidrobenzoskābe, vanilīn-, sinirgīn-, *p*-kumarīn-, kafij-, ferul-, sinapīn-, hlorogēn- un rozmarīnskābes ir plaši izplatītas augu valstī (Robbins, 2003). Tās parasti pastāv kā organisko skābju esteri vai glikozīdi, kas var būt savienoti ar dažādām augu sastāvdaļām, izmantojot estera, ētera vai acetāla saites (Zadernowski et al., 2009). Lielākā daļa garšvielu satur fenolskābes (galluskābi, kafijskābi, kanēļskābi, hlorogēnskābi, ferulskābi un vanilīnskābi) (Tajkarimi et al., 2010). Dažādām fenolskābēm ir atšķirīgi ekstrahēšanas apstākļi un tiem ir dažāds jutīgums pret sadalīšanos (Ross et al., 2009).

Daži fenolu savienojumi ir sastopami tikai atsevišķu sugu augos, bet citi ir plaši izplatīti. Tā, piemēram, izoflavonoīdi, uzrādot fitoestrogēna potenciālu, galvenokārt sastopami sojā un no sojas iegūtajos produktos, kā arī pākšaugos, bet flavoni galvenokārt atrodami selerijās, pētersīļos, spinātos. Turpretī flavonoli, hidroksibenzoskābes un hidrokskanēļskābes, antociānu un flavanolu monomēru, oligomēru, un polimēru formas ir plaši sastopamas daudzās augu sugās (Naczka, Shahidi, 2004b, 2006). Arī augu audos fenolu savienojumi nav vienmērīgi izplatīti. Fenolskābes, galvenokārt ferulskābe un *p*-kumarīnskābe, kā arī to dimēri ir sastopamas šūnu sienās kovalenti saistītas ar polisaharīdiem, kur tās veicina šūnu



sieniņu mehānisko stabilitāti. Turpretim, šķīstošie fenoli ir lokalizēti šūnu vakuolās (Naczek, Shahidi, 2006).

*Fenolu savienojumu ietekme uz cilvēku organismu.* Kopējais fenolu savienojumu patēriņš cilvēku uzturā var sasniegt 1 g dienā, savukārt vitamīnu daudzums ir aptuveni 100 mg dienā (Manach et al., 2004). Fenolskābes veido aptuveni vienu trešdaļu kopējo polifenolu devas cilvēku uzturā, un flavonoīdi veido atlikušās divas trešdaļas (Smith-Spangler et al., 2012). Fenolu kā antioksidantu efektivitāte cilvēku uzturā ir daudz lielāka nekā vitamīnu (Jahangir et al., 2009). Pētījumi liecina, ka fenolu savienojumi ir spējīgi novērst vai mazināt dažādas cilvēku fiziskās un deģeneratīvās slimības, tajā skaitā samazināt sirds un asinsvadu slimības, kā arī dažādas audzēju formas (Arts, Hollman, 2005; Manach et al., 2005). Fenoli var strādāt kopā arī sinerģiski, paaugstinot pārējo fitosavienojumu efektivitāti (Liu, 2004). Tāpēc nav pārsteidzoši, ka fenolu ieguve no augiem un citiem pārtikas avotiem tiek plaši pētīta un analizēta (Naczek, Shahidi, 2004a; Dai, Mumper, 2010). Pētnieki ir pārliecinājušies, ka uzturs, kas bagāts ar augļiem, dārzeņiem, pilngraudu produktiem, un citiem fenolu avotiem, var paaugstināt antioksidantu daudzumu cilvēka organismā (Manach et al., 2005).

*Krustziežu dzimtas augi.* Literatūrā maz atrodami dati par fenolu kvantitatīvu saturu mārrotkos. Viens no retajiem pētījumiem liecina, ka mārrotku lapas satur 256–385 mg GAE 100 g<sup>-1</sup> sausnas, saknes – 174–289 mg GAE 100 g<sup>-1</sup> sausnas (Calabrone et al., 2015). Savukārt citos krustziežu dzimtas dārzeņos, piemēram itāļu kāpostos tas var svārstīties 1573–1670 mg 100g<sup>-1</sup> sausnas, brokoļos 1621–2363 mg 100g<sup>-1</sup> sausnas un Briseles kāpostos 476–460 mg 100g<sup>-1</sup> sausnas (Ciešlik et al., 2006). Sinepes lielākos daudzumos satur ferulskābi (21–116 μg g<sup>-1</sup> sausnas) un sinapīnskābi (21–190 μg g<sup>-1</sup> sausnas) (Fang et al., 2008).

Calabrone ar kolēģiem (2015) ir konstatējis, ka kopējais flavonoīdu saturs (KFIS) mārrotku lapās – 95–171 mg QE 100g<sup>-1</sup> sausnas, bet mārrotku saknēs – 75–126 mg QE 100 g<sup>-1</sup> sausnas. Tomēr citi krustziežu dzimtas augi šajā ziņā ir plašāk izpētīti, un iegūtie rezultāti ir dažādi. Tā, piemēram, kopējais flavonoīdu saturs Ķīnas kāpostos – 944 mg g<sup>-1</sup> sausnas, brokoļos – 316 mg g<sup>-1</sup> sausnas, ziedkāpostos – 172 mg g<sup>-1</sup> sausnas, baltajos kāpostos – 102 mg g<sup>-1</sup> sausnas (Bahorun et al., 2004). Flavonolu pārstāvji kvercetinā un kaempferols ir flavonoīdu atvasinājumi, kuri atrodami krustziežu sugas augos (Onyilagha et al., 2003). Komerciālajos brokoļos kvercetinā ir 0,03–10,85 (vidēji 2,27) mg 100 g<sup>-1</sup> produkta, kaempferols 0,24–13,2 (vid. 3,14) mg 100 g<sup>-1</sup> produkta (Koh et al., 2009). Savukārt flavoni krustziežu dzimtas augos nav identificēti (Onyilagha et al., 2003).

*Čemurziežu dzimtas augi.* Čemurziežu dzimtas pārstāvju sastāvā galvenie fenolu savienojumi (Lu et al., 2005) ir kumarīni (bergaptēns, izopimpinēlīns un ksantotoksīns), flavonoīdi (kvercetinā un rutīns) (Cherng et al., 2008), fenolskābes (ferulskābe), kā arī ligustilids (Lu et al., 2005). Fenolu saturs čemurziežu dzimtas augos ir ievērojami mazāks nekā krustziežu dzimtas augos. Tā, piemēram, lupstajos ir konstatēts 437 mg GAE 100g<sup>-1</sup> sausnas (Śledź et al., 2013), seleriju saknēs 439–452 mg 100 g<sup>-1</sup> sausnas un pētersīļu saknēs 273–340 mg 100 g<sup>-1</sup> sausnas (Ciešlik et al., 2006). Toties flavonoīdu saturs čemurziežu dzimtas garšaugos ir līdz pat 1195 mg kg<sup>-1</sup> sausnas (Abdulmanea et al., 2012). Čemurziežu dzimtas augs – pētersīlis satur apiīnu 21,79–36,02 g kg<sup>-1</sup> sausnas, un apigenīnu 1,42 g kg<sup>-1</sup> sausnas (Kaiser et al., 2013a). Savukārt koriandra lapās ir atrodams flavonols rutīns 0,2 g kg<sup>-1</sup> sausnas, bet augļos tas vispār nav atrasts (Kaiser et al., 2013b), kā arī pētersīļos tas ir nelielā daudzumā (Cermak, Wolfram, 2006).

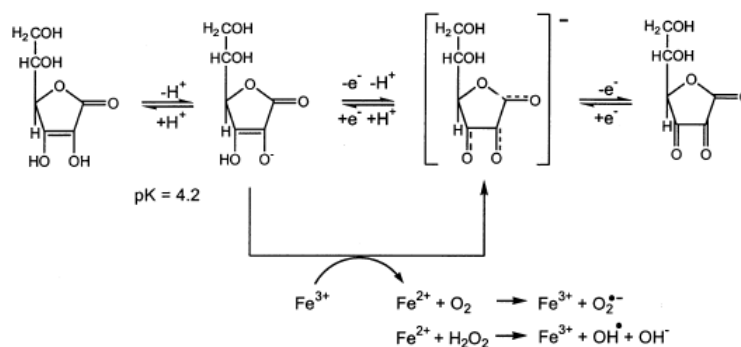
### 1.1.3. Vitamīni / *Vitamins*

Vitamīni ir bioloģiski aktīvās vielas, kas nepieciešamas dzīvības procesu norisei organismā, jo nodrošina organisma augšanu un attīstību un spēcina imūnsistēmu. Vitamīni ir dažādas ķīmiskas uzbūves organiski savienojumi, no kuriem lielākā daļa cilvēka organismā nesintezējas, bet tiek uzņemti ar augu un dzīvnieku valsts produktiem (Ball, 2006). Ūdenī šķīstošos vitamīnus cilvēka organisms nevar uzkrāt, tādēļ tie jāuzņem ar uzturu katru dienu, savukārt taukos šķīstošo vitamīnu efektīvākai izmantošanai organismā vajadzīga taukvielu klātbūtne (Bhat et al., 2007). Vitamīni organismā ir nepieciešami vielmaiņas procesos un jau ļoti nelielos daudzumos sekmē normālu organisma vielmaiņu (Ball, 2006).

Apstrādājot augus, vitamīnu saturs produktā samazinās, jo īpaši termiskās apstrādes rezultātā, kā arī saules gaismas un skābekļa klātbūtnē, zudumi ir atkarīgi arī no vides pH (Bhat et al., 2007). Produktu uzglabāšanas laikā vitamīni fermentu klātbūtnē oksidējas, tāpēc ilgstoši glabātos augļos un dārzeņos to daudzums ievērojami samazinās. Vitamīnu sadalīšanos veicina arī metālu jonu klātbūtne un sārmaina vide (Peñas et al., 2013). Viens no populārākajiem un nozīmīgākajiem ir C vitamīns.

C vitamīns ir polārs un viegli šķīst ūdenī, tā galvenā bioloģiski aktīvā forma ir L-askorbīnskābe. Šim vitamīnam piemīt stipri reducējošas īpašības, kas nosaka tā bioķīmiskās funkcijas (Halliwell, 2008). L-askorbīnskābe piedalās dažādās bioloģiskajās reakcijās un C vitamīnam ir svarīga loma visos organisma procesos (Bhat et al., 2007). C vitamīns ir pirmais antioksidants, kas tika izmantots aizsardzībai pret brīvo radikāļu nodarītajiem kaitējumiem (Rice-Evans et al., 1996; Pietta, 2000). Askorbīnskābe ir sevi parādījusi kā efektīvu superoksīda, hidrogēnperoksīda, hidrohlorīta, hidroksil, peroksil radikāļu un singletā skābekļa saistītāju. Tā var aizsargāt pret lipīdu peroksidēšanu, sasaistot peroksilradikāli ūdens fāzē, pirms tas var nokļūt lipoproteīnu lipīdu membrānā. Askorbīnskābe un tās Na, Ca un K sāļi pārtikas rūpniecībā tiek lietoti kā antioksidanti dārzeņu un augļu pārstrādē – kā līdzeklis brūnēšanas novēršanai, un tā kavē tauku oksidēšanos vai sinerģiski novērš taukus saturošu produktu oksidatīvo bojāšanos (Bhat et al., 2007). Fakts, ka C vitamīns fizioloģiski labāk darbojas, ja tas uzņemts ar augļiem un dārzeņiem, šķiet, ir saistīts ar sinerģisko efektu, darbojoties kopā ar dabas produktos esošajām citām vielām (Halliwell, 2008).

Parasti tiek uzskatīts, ka C vitamīna (askorbīnskābes) labvēlīgā ietekme palielinās, palielinoties patērētā C vitamīna daudzumam, bet pētījumos ir apstiprinājušies pretēji rezultāti, un augsta C vitamīna koncentrācija izraisa dažādu audzēju šūnu apoptozi (Sakagami et al., 1997). Organismā C vitamīns drīzāk darbojas kā prooksidants, ko plaši pētījis B. Halliwell (2008). C vitamīns var reducēt  $Fe^{3+}$  uz  $Fe^{2+}$ , kas pēc tam reaģē ar skābekli vai ūdeņraža peroksīdu, kā rezultātā veidojas superoksīda anjoni un hidroksilradikāļi (1.1. att.) (Rietjens et al., 2002).



**1.1. att. C vitamīna prooksidantu ķīmiskās reakcijas /**  
**Fig. 1.1. Pro-oxidant chemical reaction of vitamin C** (Rietjens et al., 2002).

Askorbīnskābei ir potenciāls, lai novērstu un ārstētu ļaundabīgas un deģeneratīvas slimības (Kurilich et al., 1999), tomēr tiek pieņemts, ka funkcionālās pārtikas bagātināšana ar C vitamīnu nedrīkst pārsniegt dienas devu vairāk kā 4–5 reizes (Rietjens et al., 2002).

*Krustziežu dzimtas dārzeņi* satur arī vitamīnus (Heimler et al., 2005), tostarp tokoferolu (Kurilich et al., 1999), C vitamīnu un folijskābi (Verhoeven et al., 1996), kā arī provitamīnu karotīnu (Kurilich et al., 1999). Literatūras avotos pašreiz nav atrodami pētījumi par vitamīnu saturu mārrutkos, bet I. Melgalve ar kolēģiem (1987) ir ziņojusi, ka mārrutki satur C vitamīnu 55 mg 100 g<sup>-1</sup> produkta, B<sub>1</sub> vitamīnu 0,08 mg 100 g<sup>-1</sup> produkta, B<sub>2</sub> vitamīnu 0,1 mg 100 g<sup>-1</sup> produkta, PP vitamīnu 0,4 mg 100 g<sup>-1</sup> produkta. Starp krustziežu dzimtas augiem brokoļos ir ievērojams askorbīnskābes (748 μg g<sup>-1</sup> produkta) saturs, bet ziedkāpostos β-karotīns (72 μg g<sup>-1</sup> produkta) (Jahangir et al., 2009).

*Cemurziežu dzimtas augi* neizceļas ar lielu vitamīnu saturu, bet M. Koudela un K. Petrikova (2008) konstatējuši, ka šīs dzimtas pārstāvim saldajam fenhelim C vitamīna saturs bija 87–347 mg kg<sup>-1</sup> svaiga produkta.

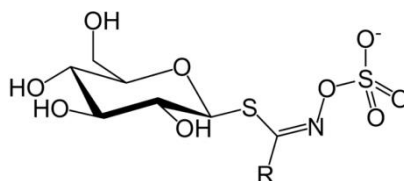
#### 1.1.4. Gaistošie savienojumi / *Volatile compounds*

Gaistošie organiskie savienojumi ir organiskās ķīmiskās vielas, kurām ir augsts parciālais tvaika spiediens istabas temperatūrā, un tie ietver gan dabīgus, gan cilvēku radītus ķīmiskos savienojumus (Bowman et al., 1995). Šie savienojumi veidojas dažādās reakcijās kā daļa no augu, dzīvnieku un mikroorganismu metabolisma. Fermenti var būt iesaistīti ne tikai fermentatīvajās reakcijās, kas izraisa audu bojājumus (kā tas notiek augļu un dārzeņu sadalīšanās laikā), bet arī netieši aromāta veidošanā, atbrīvojot aminoskābes no pieejamiem proteīniem. Tie var pārvērsties gaistošos savienojumos turpmākajās nefermentatīvajās reakcijās. Šādā veidā fermenti vairo maizes, gaļas, alus, tējas un kakao aromātu (Belitz et al., 2009).

Galvenās gaistošo organisko savienojumu klases ir aromātiskie savienojumi, terpēni, spirti, aldehīdi, ketoni, esteri u.c. savienojumi, kas ir sastopami daudzos augos, tajā pašā laikā daudzu dārzeņu aromātā nozīmīga loma ir gaistošajiem sēra savienojumiem, kuri veidojas dažādās fermentatīvajās reakcijās. Krustziežu (*Brassicaceae* L.) dzimtas augos to aromāts ir veidojies glikozinolātu vai S-alkil-cisteīna-sulfoksīda sadalīšanās rezultātā. Terciālie tioli ir vieni no visintensīvākajām aromāta substancēm. Tiem ir augļu smarža

pat ļoti zemā koncentrācijā, kādā tie ir sastopami pārtikā, bet, pieaugot koncentrācijai, tie smaržo pēc kaķa urīna un tiek saukti par kaķu aromātu (Belitz et al., 2009).

Sēru saturošie savienojumi ir relatīvi neliela augu sekundāro metabolītu grupa (aptuveni 200 savienojumi), kas ietver glikozinolātus (izplatīti krustziežu dzimtas augos) (Zrybko et al., 1997) un to sadalīšanās produktus (tiocianātus (TC), izotiocianātus (ITC), epitionitrilus (EN), un oksazolidīna tionus), cisteīna sulfoksīdus, dialilsulfīdus un ditioltionus (Hounscome, Hounscome, 2011). Glikozinolāti ir organiskie savienojumi, kas satur sēru un slāpekli (1.2. att.) un veidojas no glikozes un aminoskābēm (Zrybko et al., 1997). Šie savienojumi satur arī mainīgu oglekļa R-grupu, kas nosaka glikozinolāta savienojuma nosaukumu (Whitmore, Naidu, 2000).



### 1.2. att. Glikozinolātu pamatstruktūras formula /

*Fig. 1.2. Basic structural formula of glucosinolates* (Fahey et al., 2001)

Augos ir identificētas aptuveni 120 glikozinolātu struktūras, bet tikai aptuveni 16 ir sastopami krustziežu dzimtas augu pārtikas produktos, ko patērē cilvēki (Fahey et al. 2001). Kopējais glikozinolātu apjoms un profils atšķiras starp šiem augiem. To arī ietekmē augšanas apstākļi, augu attīstības stadija, kā arī apstrādes metodes (pēc ražas novākšanas) un uzglabāšanas apstākļi (Björkman et al., 2011).

Pēc augu audu bojājuma (košļāšana, mehāniski bojājumi) fermenti un substrāts nonāk saskarē, kā rezultātā notiek glikozinolātu hidrolīze, kuru katalizē šūnu sienās esošā mirozināze (Neoh et al., 2012). Tiek atbrīvota glikoze un sulfāti, veidojot nestabilus aglikonus, kas spontāni pārtop par ITC-iem, TC-iem, nitriliem, EN-iem vai ODN-iem (Wittstock, Halkier, 2002; Bones, Rossiter, 2006). Mirozināzei kā fermentam iedarbojoties uz sinirgīnu kā galveno produktu iegūst AITC-tu, kas dod mārrutkiem un sinepēm tā aso, dedzinošo garšu un smaržu (Raghavan, 2000; Whitmore, Naidu, 2000; Belitz et al., 2009).

Vieni no izplatītākajiem glikozinolātu hidrolīzes produktiem ir ITC-ti, kuri sastopami tādos krustziežu dārzeņos kā mārrutki, ūdens kreses, Briseles kāposti, brokoļi, baltie kāposti, redīsi un rāceņi (Belitz et al., 2009). Hidrolīzes produktu daba ir atkarīga no glikozinolātu sānu ķēdes struktūras, auga sugas, reakcijas apstākļiem un pH (Wittstock, Halkier, 2002; Bones, Rossiter, 2006). Alilcianīdi veidojas, ja pH ir 4 (zems vides pH veicina nitrilu veidošanos), savukārt AITC-ti veidojas, ja pH ir 7 (Bones, Rossiter, 1996; Wittstock, Halkier, 2002).

Krustziežu dzimtas dārzeņos (kāpostos, brokoļos u.c.) lielākoties ir sastopami glikozinolāti, kā arī mazākos apjomos S-metil-cisteīn sulfoksīdi. Šīs dzimtas augi ir gandrīz vienīgie augi, kas satur glikozinolātus. Vairāk nekā 80% visu identificēto glikozinolātu ir sastopami krustziežu dzimtas augos (Kjaer, 1976).

Vienas sugas ietvaros alilizotiocianātu (AITC-tu) līmenis svārtās starp genotipiem (Mayton, 1996). Pētījumi liecina, ka mārrutkos un sinepēs svarīgākie glikozinolātu pārstāvji ir sinirgīns un glikonasturtīns (Fahey et al., 2001), bet mārrutku aromātu ietekmē arī metil-, etil-, izopropil- un 4-pentenil- ITC, kuri tomēr ir ļoti mazos daudzumos, salīdzinot ar AITC (Belitz et al., 2009). Mārrutku ēteriskās eļļas galvenā sastāvdaļa ir AITC, kam piemīt

antimikrobiāla iedarbība (Tajkarimi et al., 2010). Čehu pētnieki ziņo, ka mārrutku ēteriskā eļļa satur ITC (AITC – 63,7%, β-feniletīl-ITC – 23,9%) un dialil sulfīdus, kas rada tipisko smaržu un garšu, izmantojot šo ēterisko eļļu kā piedevu dažādiem pārtikas produktiem, var novērot pozitīvu efektu uz šo produktu oksidatīvo stabilitāti (Kloucek et al., 2012). Savukārt komerciālajos kaperos galvenais glikozinolāta pārstāvis ir metilizotiocianāts (MITC), kam seko benzilzotiocianāts (BITC) (Tlili et al., 2011).

Izmantojot AEŠH analīzes, tika konstatēts, ka mārrutku hibrīda ‘1590’ sastāvā galvenie glikozinolāti ir sinirgīns un glikobrasīcīns, tajā pašā laikā citos krustziežu dzimtas augos, piemēram, brokoļos (šķirne ‘Lucky’) ir pilnīgi citāds šo savienojumu profils (1.2. tab.) (Li, Kushad, 2005).

1.2. tabula / Table 1.2

**Mārrutku sakņu un brokoļu ziedkopu glikozinolātu sastāvs / *Glucosinolate profile of horseradish roots and broccoli florets, μmol g<sup>-1</sup> sausnas / DW*** (Li, Kushad, 2005)

Glikozinolāti / <i>Glucosinolate</i>	Augu materiāls / <i>Plant material</i>	
	Mārrutki / <i>Horseradish</i> ‘1590’	Brokoļi / <i>Broccoli</i> ‘Lucky’
Kopējie glikozinolāti / <i>Total glucosinolates</i>	129.0 ± 12.1	7.6 ± 0.4
Sinirgīns / <i>Sinigrin</i>	95.5 ± 5.0	n.d.
Glikorafanīns / <i>Glucorafanin</i>	n.d.	4.9 ± 0.7
Glikobrasīcīns / <i>Glucobrasicin</i>	27.6 ± 6.0	0.5 ± 0.2
Glikonasturtīns / <i>Gluconasturtin</i>	0.17 ± 0.1	0.30 ± 0.1

n.d. – nav noteikts / *not detected*.

Korejas pētnieki ziņojuši, ka ITC ir augstāka bioloģiskā aktivitāte un AITC ir efektīvāks antimikrobiālais savienojums, salīdzinot ar ķiploku eļļu un transkanēļaldehīdu (Gamage et al., 2009).

Glikozinolātu ietekme uz cilvēka veselību. Šiem savienojumiem ir gan pozitīva, gan negatīva ietekme uz cilvēka organismu (Mithen, 2001). Konkrētu glikozinolātu noārdīšanās produktu ietekme uz citiem organismiem atšķiras un ne vienmēr ir zināma. Ja izmanto pārmērīgu daudzumu, tad daudzi no šiem savienojumiem var būt ļoti toksiski (Brown, Morra, 2005).

**1.2. Bioloģiski aktīvos savienojumus ietekmējošie faktori / *Factors influencing content of bioactive compounds***

**1.2.1. Bioloģiski aktīvos savienojumus ietekmējošie bioloģiskie faktori / *Biological factors influencing content of bioactive compounds***

Bioloģiski aktīvo vielu sastāvu, saturu un funkcijas augos var ietekmēt dažādi faktori: ģenētiskais fons (šķirne, genotips), dažādi ārējie faktori (audzēšanas, uzglabāšanas apstākļi, apstrāde), ražas novākšanas laiks, kā arī auga brieduma pakāpe (Kreutzmann et al., 2008; Angela, Meireles, 2009; Marrelli et al., 2012).

Vairāki zinātnieki ir izpētījuši novākšanas laika (Koh et al., 2009), attīstības stadijas (Björkman et al., 2011), augšanas apstākļu (Kusznierewicz et al., 2008) ietekmi uz krustziežu dzimtas augu ķīmisko sastāvu.

Tieši fenola sastāvu augos ietekmē tādi faktori kā šķirne, genotips, klimats, ražas novākšanas laiks, glabāšana, apstrāde un pārstrāde (Marrelli et al., 2012). Arī apkārtējās vides stresa apstākļi (karstums, aukstums, ozons, sausums, intensīva gaisma pirms ražas novākšanas) pozitīvi ietekmē KFS augļos un dārzeņos (salātos (*Leucojum vernum* L.),

batātēs (*Salix* L.), zemenēs (*Zantedeschia aethiopica* L.), tomātos un kukurūzā (*Kniphofia uvaria* L.) (Capanoglu, 2010).

Arī viena augu dažādās daļās ir ievērojami atšķirīgs flavonoīdu saturs un lapās tas ir lielāks nekā saknēs, jo flavoni un flavonoli ir stipri UV absorbētāji, kas galvenokārt uzkrājas epidermas šūnās (Nacz, Shahidi, 2003, 2004b; Gould, Lister, 2006).

N. Chaieb et al. (2011) un A. Imene et al. (2012) ziņoja, ka ražas novākšanas laiks ietekmē antioksidantu aktivitāti (AA) un ķīmisko sastāvu, tāpat arī savienojumu daudzums un raksturs atšķiras dažādās auga attīstības stadijās. Augu attīstības stadija ražas novākšanas laikā, ir produkta kvalitātes būtisks faktors. *Ficus carica* cv. 'Dottato' augļiem zemākais KFS tika konstatēts nobriešanas sākumā un pakāpeniski palielinājās līdz mīkstuma nogatavošanās posmam (Marrelli et al., 2012). Savukārt lauka pupiņām (*Fagussylvatica* L.) augstākais KFS ir vienu mēnesi pēc to novākšanas, viszemākais – pilngatavības posmā, kad augi bija pilnīgi sausi (Chaieb et al., 2011). To visu var ietekmēt izmaiņas sekundārajā metabolismā (Chaieb et al., 2011; Imene et al., 2012). Atsevišķiem augiem (*Opuntia ficus-indica* (L.) Mill un *O. stricta* (Haw.)) ziedēšanas laikā ir būtiski lielāks fenolu savienojumu saturs, kā arī AA.

Vēl jo vairāk – ķīmiskais sastāvs un savienojumu raksturs ir atšķirīgs dažādām sugām un pat vienas sugas dažādiem genotipiem, paveidiem (Chaieb et al., 2011; Imene et al., 2012). Arī pētot vienas sugas dažādus genotipus, zinātnieki ir konstatējuši fenolu savienojumu satura būtiskas atšķirības starp 8 burkānu (Kreutzmann et al., 2008), 13 lauka pupiņu (Chaieb et al., 2011), kā arī 11 sīpolu genotipiem (Sinha, 2011).

### **1.2.2. Bioloģiski aktīvo savienojumu izmaiņas augu apstrādes procesos / *Changes of biologically active compounds of plants during their processing***

Bioloģiski aktīvās vielas ir pakļautas nelabvēlīgām izmaiņām tehnoloģisko procesu, kā arī uzglabāšanas laikā, kas noved pie produktu bioloģiskās vērtības samazināšanās (Angela, Meireles, 2009). Kā šādus tehnoloģiskos procesus var minēt kaltēšanu, saldēšanu, sterilizēšanu, apstarošanu, ekstrakciju, kam ir svarīga loma gala produktu kvalitātē, jo īpaši attiecībā uz produktu antioksidantu aktivitāti (Angela, Meireles, 2009).

**Saldēšana** ir populāra produktu derīguma termiņa pagarināšanas metode, un tā ietekmē augu bioloģiski aktīvo savienojumu sastāvu un aktivitāti (Chassagne-Berces et al., 2009), kā arī izmaina izejmateriālu struktūru (Taiwo et al., 2003).

Saldēšana notiek  $-18\text{ }^{\circ}\text{C}$  vai zemākā temperatūrā, un šāda temperatūra kavē mikroorganismu augšanu un palēnina ķīmiskās izmaiņas, kas ietekmē kvalitāti vai izraisa pārtikas bojāšanos (Galoburda, Rakčejeva, 2008). Kaut saldēšana ir efektīva produktu uzglabāšanas metode, tomēr glabāšanas laikā notiek dažas kvalitātes izmaiņas. Saldēšana neuzlabo produktu kvalitāti, bet tikai pagarina glabāšanas laiku ar minimālām kvalitātes izmaiņām. Šo izmaiņu apjoms ir atkarīgs no daudziem faktoriem, tajā skaitā sasaldēšanas un atkausēšanas ātruma, uzglabāšanas temperatūras, temperatūras svārstībām un citiem faktoriem (Boonsumrej et al., 2007). Saldēšanas ātrums ievērojami ietekmē ledus konfigurāciju un pārtikas produktu materiālu struktūru (Chassagne - Berces et al., 2010). Līdz ar lēnāku saldēšanas ātrumu notiek lielāku ledus kristālu veidošanās šūnās ārējos audos (Chassagne-Berces et al., 2009), bet ledus kristāliem jābūt pēc iespējas mazākiem, lai netiktu bojāti produkta audi, līdz ar to tiktu samazināts šūnsulas zudums pēc produkta atlaidināšanas (Galoburda, Rakčejeva, 2008). Svarīgākās izmaiņas, kas notiek saldētu pārtikas produktu uzglabāšanas laikā, ir krāsas

zudums (Chandrasekaran, 1994), lipīdu oksidēšanās, proteīnu denaturēšanās (Bhobe, Pai, 1986) un ledus rekristalizācija (Londahl, 1997).

Ir dažādi novērojumi par dārzenu fenolu savienojumu un vitamīnu izmaiņām saldējot. Burkānos un brokoļos pēc saldēšanas palielinās fenolu saturs, bet C vitamīna saturs būtiski samazinās (Patras et al., 2011), arī saldētos ziedkāpostos uzglabāšanas laikā samazinās fenolu, C vitamīna un glikozinolātu saturs un antioksidantu aktivitāte (Volden et al., 2009).

Arī **kaltēšana** ir nozīmīgs augu apstrādes veids produktu ilgstošai glabāšanai. Šāds apstrādes process kavē fermentu degradāciju un ierobežo mikrobu augšanu, bet sporas kaltēšanas laikā saglabā savu dzīvotspēju (Ahrne et al., 2007).

Izmantojot konvektīvo kaltēšanu, ābolu mizās fenolu savienojumu saturs ievērojami samazinās, paaugstinoties temperatūrai (40, 60 vai 80 °C) (Boussetta et al., 2009). Paaugstinātas temperatūras ietekmē samazinās aromātisko savienojumu saturs (Achanta, Okos, 1995), jo kaltēšanas metode un parametri būtiski ietekmē produktu aromātu (Sellmani et al., 2011). Kaltēšanas procesā var veidoties jauni savienojumi, ko skaidro ar oksidēšanās reakcijām, glikozīdu hidrolizēšanos vai savienojumu izdalīšanos šūnu plīšanas rezultātā (Diaz-Moroto et al., 2002). C vitamīns ir visnestabilākā bioloģiski aktīvā viela, jo tas viegli sadalās dažādu apstrādes procesu laikā (temperatūra, metāla jonu klātbūtne, fermenti un gaisma) (Bhat et al., 2007). Paaugstinoties temperatūrai un pagarinoties apstrādes ilgumam, samazinās askorbīnskābes saturs (Mrad et al., 2012). Kaltējot gaisā 60 °C vai zemākā temperatūrā, zīdkoka lapās esošo brīvo radikāļu saistīšanas aktivitāte un fenolu savienojumu līmenis gandrīz nemainās, bet, apstrādājot 70 °C un augstākā temperatūrā, abi šie rādītāji ievērojami samazinās (Katsube et al., 2009). Literatūrā ir atrodamī pretrunīgi dati par kaltēšanas ietekmi uz fenolu saturu augos: daļā pētīto ogu (saldajos kartupeļos un sīpolos) pēc kaltēšanas fenolu savienojumu saturs bija lielāks nekā svaigos (Yang et al., 2010; Arslan, Musa Özcan, 2010), bet citos augos (bazilikā un olīvu lapās) pēc kaltēšanas fenolu savienojumu saturs bija mazāks nekā svaigos (Miean, Mohamed, 2001; Erbay, Icier, 2009).

Ir izstrādātas inovatīvas dehidratācijas tehnoloģijas – mikroviļņu-vakuuma kaltēšana un sublimācija, lai paaugstinātu efektivitāti un samazinātu izmaksas, kā arī maksimāli saglabātu kaltēto produktu kvalitāti (Ahrne et al., 2007).

Pēdējos gados mikroviļņu-vakuuma kaltēšana ir pētīta kā potenciāla metode, lai iegūtu augstas kvalitātes kaltētus pārtikas produktus. Kaltējot vakuumā, ar parciālsplēdes starpības palielinājumu, tiek uzturēta relatīvi zema produkta temperatūra, kas ir zemāka nekā tradicionālajās kaltēs, un kaltēšana notiek straujāk, līdz ar to samazinās produkta sastāvdaļu oksidēšanās un termiskā noārdīšanās (Galoburda, Rakčejeva, 2008). Izmantojot šo kaltēšanas metodi, ir iespējams samazināt kaltēšanas laiku, kā arī iegūt produktus ar unikālām īpašībām (Therdthai, Zhou, 2009). Mikroviļņu vakuuma kaltēšanas tehnoloģija ir veiksmīgi izmantota dažādu augļu un graudu kaltēšanai (Arslan, Musa Özcan, 2010; Yang et al., 2010). Elektromagnētiskā mikroviļņu enerģija iekļūst produktā un pārveidojas siltumā, tādā veidā nodrošinot produkta strauju sakaršanu. Pēc mikroviļņu-vakuuma kaltēšanas daudz labāk saglabājas produktu uzturvielas un bioloģiski aktīvās vielas, kuras ir jutīgas pret termisko iedarbību un oksidēšanos (Galoburda, Rakčejeva, 2008).

Vairāki zinātnieki ir pierādījuši, ka mikroviļņu-vakuuma kaltēšanas ietekme uz gala produkta kvalitāti ir atkarīga no izmantotās izejvielas, metodes un parametriem (mikroviļņu intensitātes, spiediena u.c.) (Bhat et al., 2007). Arī AA saldajos kartupeļos pozitīvi ietekmēja kaltēšana mikroviļņu-vakuuma kaltē, kas bija augstāka nekā svaigos (Yang et al., 2010).

Samazinot produkta apstrādes laiku paaugstinātā temperatūrā, var izmantot sublimēšanu, kas nav plaši izplatīta pārtikas saglabāšanas metode (Therdthai, Zhou, 2009). Sublimācija jeb kaltēšana saldējot ir tehnoloģija, kas ne tikai spēj saglabāt produkta kvalitāti, bet arī sniedz visas kalētas pārtikas priekšrocības attiecībā uz derīguma termiņu, transporta un uzglabāšanas izmaksām. Taču galvenais sublimācijas trūkums ir šīs tehnoloģijas salīdzinoši augstās izmaksas (Chan et al., 2009).

Brīvo radikāļu saistīšanas aktivitāti un fenolu savienojumu līmeni zīdkoka lapās gandrīz neietekmē sublimācija, salīdzinot ar konvektīvo kaltēšanu (Katsube et al., 2009). Wolfe un Liu (2003) ir uzsvēruši, ka kaltējot gaisā un sublimējot, ābolu mizas daudz labāk saglabā fenolu savienojumus, kuru saturs līdzinās svaigās ābolu mizās konstatētajam saturam. Līdzīgas iezīmes ir arī timiānam un rozmarīnam (Usai et al., 2011).

Pētījumi rāda, ka dillēs mikroviļņu-vakuuma un sublimācijas kaltēšana spēj saglabāt vairāk fenolu savienojumu (Kruma et al., 2011).

### **1.3. Bioloģiski aktīvo savienojumu kā antioksidantu nozīme / *Importance of biologically active compounds as antioxidants***

Augu bioloģiski aktīvās vielas ir nozīmīgas ne tikai pašiem augiem, bet tās ir svarīgas arī cilvēku veselībai. Šīs vielas darbojas kā antioksidanti, kuri novērš vai aizkavē oksidēšanās procesus.

#### **1.3.1. Pārtikas oksidēšanās / *Food oxidation***

Oksidēšanās tiek definēta kā ķīmiska reakcija, kas ietver elektronu pārvietošanu starp molekulām vai elektronu bagātām vielām (Wasowicz et al., 2004). Oksidācija pārtikas sistēmās lielākoties ir process, kas pasliktina produkta sensoro kvalitāti un uzturvērtību. Pārtikas oksidācijas rezultātā radušies atsevišķi produkti ir toksiski, un ar uzturu uzņemtā pārtika, kas satur toksiskos oksidācijas produktus un kurai ir samazināta pārtikas uzturvērtība un antioksidantu saturs, var ievērojami negatīvi ietekmēt patērētāju veselību (Wasowicz et al., 2004; Kołakowska, Bartosz, 2013). Pārtikas ražošanas ķēdē bioloģisko, apkārtējās vides, tehnoloģisko faktoru un lietoto piedevu ietekmē mainās oksidēšanās ātrums. Oksidācija skar visas pārtikas sastāvdaļas (lipīdus, olbaltumvielas un ogļhidrātus), bet to ietekme uz pārtikas kvalitāti nav viennozīmīga (Wasowicz et al., 2004; Kołakowska, Bartosz, 2013).

Oksidēšanās procesā rodas primārie oksidēšanās produkti (brīvie radikāļi, aktīvā skābekļa formas (ROS)), kā arī sekundārie oksidēšanās produkti.

**Brīvie radikāļi un ROS.** Daudzu oksidācijas procesa ierosinātāji dzīvajos organismos ir brīvie radikāļi un citas aktīvā skābekļa formas (ROS), kuras veidojas katrā dzīvā šūnā. Brīvie radikāļi ir jebkuras vielu molekulas, joni vai atomi, kam ir vismaz viens nesapārots elektrons ārējā apvalkā. Jebkurš brīvais radikālis, kas satur skābekli, tiek attiecināts uz ROS, bet ROS var ietvert arī tādas formas, kas nav brīvie radikāļi (1.3. tab.). Visbiežāk sastopamais ROS ir superoksīda anjona radikālis ( $O_2^{\bullet -}$ ) un ūdeņraža peroksīds. Reakcijās starp  $O_2^{\bullet -}$  anjonu un  $NO^{\bullet}$ , kurš arī ir brīvais radikālis, veidojas spēcīgs oksidants – peroksinitrīts  $ONOO^{\bullet}$ .

Lai gan ROS galvenokārt ir iesaistīti šūnu bojājumu radīšanā, tiem ir arī liela fizioloģiska nozīme vairākos starpšūnu signālu un regulējumu aspektos. ROS var būt arī ļoti svarīga fizioloģiska nozīme, jo tie kavē vairāku gēnu izpaušmi un signālu pārvades ceļus un atkarībā no koncentrācijas izraisa vai nu pozitīvu reakciju (šūnu vairošanu), vai negatīvu šūnu reakciju (augšanas aizkavēšanu vai šūnu bojāeju) (Bartosz, Kołakowska, 2011).



**Aktīvais skābeklis un radniecīgie savienojumi / Active oxygen and related species**  
(Yanishlieva-Maslarova, 2000)

Radikāļi / Radicals			Ne-radikāļi / Non-radicals		
O <sub>2</sub> <sup>·-</sup>	Superoksīds / <i>Superoxide</i>	NO <sub>2</sub> <sup>·</sup>	Slāpekļa dioksīds / <i>Nitrogen dioxide</i>	H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	Ūdeņraža peroksīds / <i>Hydrogen peroxide</i>
HO <sup>·</sup>	Hidroksil radikālis / <i>Hydrogen radical</i>	·NO	Slāpekļa oksīds / <i>Nitric oxide</i>	<sup>1</sup> O <sub>2</sub>	Singlets oksīds / <i>Singlet oxygen</i>
HO <sub>2</sub> <sup>·</sup>	Hidroperoksilradikālis / <i>Hydroperoxyl radical</i>	RS <sup>·</sup>	Til radikālis / <i>Thiyl radical</i>	O <sub>3</sub>	Ozons / <i>Ozone</i>
L <sup>·</sup>	Lipīdu radikālis / <i>Lipid radical</i>	P <sup>·</sup>	Proteīna radikālis / <i>Protein radical</i>	LOOH	Lipīdu hidroperoksīds / <i>Lipid hydroperoxide</i>
LO <sub>2</sub> <sup>·</sup>	Lipīdu peroksilradikālis / <i>Lipid peroxy radical</i>	LO <sup>·</sup>	Alkoksil radikālis / <i>Lipid alkoxyl radical</i>	HOCl	Hipohlorīts / <i>Hypochlorite</i>

**Lipīdu oksidēšanās.** ROS bojā visu veidu bioloģiskās molekulas, bet lipīdu oksidācijā tiem ir īpaša loma, jo enerģijas barjera lipīdu peroksidācijas sākšanai ir zemāka nekā olbaltumvielu, ogļhidrātu vai nukleīnskābju oksidācijas gadījumā. Tomēr ir mijiedarbība starp dažādu biomolekulu oksidatīvām reakcijām. Citu molekulu brīvie radikāļi var ierosināt lipīdu oksidēšanos, bet lipīdu oksidācijas produkti maina olbaltumvielas un nukleīnskābes un noārda antioksidantus. Lipīdu oksidācija var notikt pēc atšķirīgiem mehānismiem.

**1. Autooksidēšanās** jeb brīvo radikāļu reakcijas (Yanishlieva-Maslarova, 2000). Autooksidēšanās ir radikāļu ķēdes reakciju process, kas ietver trīs posmus:

- a) oksidēšanās ķēdes ierosināšanas posmā lipīdu radikāļi veidojas no lipīdu molekulām, no kurām tiek atrauts ūdeņraža atoms, veidojot brīvo radikāli alkilradikāli L<sup>·</sup>. Šo norisi var paātrināt paaugstināta temperatūra, UV starojums un redzamā gaisma;
- b) oksidēšanās ķēdes sazarošānās posmā viena lipīda radikālis pārvēršas citā lipīdu radikālī. Šajās reakcijās vienmēr alkilradikālis reaģē ar skābekli, veidojot peroksilradikāli;
- c) oksidēšanās ķēdes apraušanās posms ir beigu reakcijas. Tajās brīvie radikāļi saistās dažādās kombinācijās, veidojot molekulas ar pilnu elektronu komplektu. Šīs ir zemas enerģijas reakcijas, kuras ir ierobežotas ar zemu radikāļu koncentrāciju un prasībām pret radikāļiem ar tiešu orientāciju uz saskaršanos.

**2. Fotooksidācija.** Alternatīvs oksidēšanās veids, kurā brīvā radikāļa vietā veidojas hidroksiperoksīds ir fotooksidācija. Sābekļa pāreju singleta stāvoklī (<sup>1</sup>O<sub>2</sub>) var ierosināt ar gaismas enerģiju, ko veicina pigmenti, kas darbojas kā sensibilizatori. Tā kā singlets skābeklis (<sup>1</sup>O<sub>2</sub>) ir ļoti elektrofilis, tas var ātri reaģēt ar nepiesātinātiem lipīdiem, bet pēc citāda mehānisma nekā brīvo radikāļu autooksidēšanās procesos. Fotooksidācija ir ātrāka reakcija nekā autooksidācija (oleīnskābes gadījumā fotooksidācija var būt 30 000 reizes ātrāka nekā autooksidācija) (Mosca et al., 2011). Sensibilizatoru (hlorofila, porfirīna, mioglobīna, riboflavīna, bilirubīna, eritrozīna, rozbengāla, metilēnzila, uc.) klātbūtnē taukskābju atlikumu dubultsaites mijiedarbojas tieši ar singletu skābekli, kas veidojas, skābeklim mijiedarbojoties ar gaismu vai UV starojumu (Belitz et al., 2009).

Hlorofils ir visplašāk izplatītais dabas pigments, un augu audos tas atrodas koloīdas suspensijas veidā. Ir divu veidu hlorofili – a (zili zaļš) un b (dzeltenī zaļš) –, kas atšķiras pēc savas struktūras. Hlorofila pigmenti ir vienādi visos augos, bet būtiska krāsu atšķirība ir saistīta ar citu saistīto pigmentu klātbūtni, kas

vienmēr pavada hlorofilu. Hlorofils ir salikts esteris, kas šķīst organiskajos šķīdinātājos (spirtā, acetonā, hloroformā, benzolā), reaģējot ar sārmiem, veidojas hlorofilīds, bet ar skābēm – feofitīns. Hlorofils nav ūdeņraža donors, kā arī nepiedalās ūdeņraža oksidēšanās-reducēšanās reakcijās. Uzglabājot tumsā, hlorofils un tā atvasinājumi eļļas ūdens emulsijā darbojas kā antioksidanti un kavē lipīdu oksidēšanos, bet gaismā tie paātrina oksidēšanos, jo darbojas kā prooksidanti (Kim et al., 2012).

**3. Metālisko mikroelementu un hēma savienojumu katalizēta peroksidācija.** Pārejas valences metāla joni, pirmkārt, piedalās Fentona reakcijā, domājams, kā galvenais bioloģiskās sistēmas hidroksilgrupas ( $\cdot\text{OH}$ ) avots, kā arī tiem ir liela nozīme lipīdu peroksīdu sadalīšanā. Šie peroksidācijas primārie produkti, īpaši paaugstinātā temperatūrā, var lēnām spontāni sadalīties, veidojot peroksilradikāļus ( $\text{ROO}\cdot$ ), bet, paātrināti sadaloties, veidojas alkoksil ( $\text{RO}\cdot$ ) radikāļi (Bartosz, 2003).

Metālu joni ir atrodami pārtikas sastāvdaļās, un to saturs var būt paaugstināts apkārtējās vides apstākļu ietekmē vai saskarē ar metāliskām iekārtām, un tas var paātrināt reakcijas (Faustman et al., 2010; Min et al., 2010).

Tauku oksidēšanās līmeni parāda peroksīdu skaitlis, kura noteikšanai izmanto standarta metodi LVS EN ISO 3960:2010. Peroksīdu skaitlis raksturo taukos esošo peroksīdu un hidroperoksīdu veidā saistītā skābekļa daudzumu, jeb liecina par pirmējo oksidēšanās produktu klātbūtni (Gertz et al., 2000).

**Sekundārie oksidēšanās produkti.** Lipīdu hidroperoksīdu oksidēšanās primārie produkti ir ļoti nestabili un paaugstinātā temperatūrā, apgaismojumā un prooksidantu klātbūtnē sadalās. Tā rezultātā rodas tādi sekundārie produkti kā aldehīdi, ketoni, laktoni, spirti, ketokarbonskābes, hidroksi skābes, epoksīdi un citi viegli gaistoši savienojumi. Daži no šiem sekundārajiem produktiem var būt toksiski cilvēkiem un ir atbildīgi par nevēlamo oksidētajai eļļai tipisko sasmakušo aromātu (Decker et al., 2010). Svarīgākie no šiem produktiem ir īsās ķēdes nepiesātinātie aldehīdi aldehīdgrupas reaktivitātes dēļ. Tiem piemīt bioloģiska aktivitāte *in vivo*, un tie viegli mijiedarbojas ar šūnu un pārtikas komponentiem, kas rada pārtikas uzturvērtības samazinājumu. Šie aldehīdi spēj radīt bojājumus bioloģiskajās makromolekulās (Traverso et al., 2010), pie kam tie ir izturīgi un organismā viegli uzsūcas no uzņemtajiem pārtikas produktiem (Decker et al., 2010).

### 1.3.2. Pārtikas oksidēšanās kavēšana / *Food oxidation inhibition*

Lai palēninātu, samazinātu vai novērstu oksidatīvo bojāšanos, pārtikas produktiem pievieno antioksidantus (Shahidi, 2000; Zou, Akoh, 2015). Antioksidanti ir spējīgi pildīt savas funkcijas, pat esot pārtikas produktos vai organismā zemākā koncentrācijā, salīdzinot ar oksidējošo substrātu (Naczka, Shahidi, 2003). Savienojumi ar antioksidantu īpašībām ir atrodami daudzu pārtikas produktu sastāvā, jo tos dabīgā veidā satur produktu izejvielas, kā arī antioksidantus ir iespējams pievienot tehnoloģiskajā procesā. Antioksidantu aktivitāte pārtikas sistēmās ir atkarīga no daudziem faktoriem, tostarp antioksidantu mijiedarbības ar citām pārtikas sastāvdaļām, kā arī vispārējiem nosacījumiem pārtikas vidē (pH, temperatūras, jonu spēka, hidrofilā/lioofilā līdzsvara utt.) (Decker et al., 2005). Būtu jāatšķir antioksidanti, kas primāri tiek lietoti pārtikas sistēmu stabilizēšanai un ar pārtiku tiek uzņemti ļoti mazās devās, un fizioloģiskie antioksidanti vai antioksidatīvās sistēmas, kas nepārtraukti iekļaujas organisma funkcijās.

**Antioksidantu vispārīgs raksturojums.** Kaut gan termins „antioksidants” sākotnēji skaidrots kā molekulas, kas novērš skābekļa patēriņu cilvēku audos, tas tiek papildināts ar piebildi par oksidēšanās procesa kavēšanu kopumā. Antioksidants ir molekula, kas palēnina vai novērš citu molekulu oksidēšanos un tādējādi var būt vērā ņemams oksidēšanās kavētājs. Ir svarīgi apzināties, ka ne visi oksidēšanās kavētāji ir tiešie antioksidanti (Shahidi, 2000, 2002). Skaidrojums par „inhibitoriem” un „oksidantiem” ir izmantoti ķīmiski termini, bet „antioksidants” un „pro-oksidants” ir specifiski apzīmējumi bioloģiskajām sistēmām (Prior, 2014).

Antioksidantus var klasificēt pēc dažādiem principiem.

**1. Pēc izcelsmes** antioksidantus iedala 3 grupās:

- a) sintētiskie – tādi, kuriem dabā nav analogu. Likumu aktos atļauti tikai daži: butilhidroksianisols (BHA, E320), butilhidroksitoluls (BHT, E321), terciārbutilhidrohinons (TBHQ, E319) (Branen et al., 2002; Belitz et al., 2009);
- b) mākslīgie jeb modificēti dabīgie antioksidanti. Nozīmīgākie šajā grupā ir gallāti (E304, E306–E312) (propil-, oktil-, dodecil-) (Namiki, 1990);
- c) dabīgie vai dabīgai identiskas izcelsmes. Pie šīs grupas var pieskaitīt askorbīnskābi un tās sāļus (E300–302), tokoferolus (E306–309), vīnskābi, pienskābi (Branen et al., 2002; ES regula EKR 1129/2011).

Pārtikas produktu sintētisko antioksidantu klāsts nav sevišķi liels, bet dabas produktos ir vairāki savienojumi ar antioksidatīvām un brīvos radikālus saistošām īpašībām (Tirzītis, 2011). Dabīgie antioksidanti var darboties gan sinerģiski, gan, iespējams, arī antagoniski (Ma et al., 2009).

No praktiskā viedokļa, sintētiskos antioksidantus ir vieglāk pielietot pārtikas rūpniecībā. Taukvielām bagātos produktos ar spēkā esošajiem normatīvajiem aktiem atļautie antioksidanti un to atļautās maksimālās devas apkopotas 1.4. tabulā.

1.4. tabula / Table 1.4

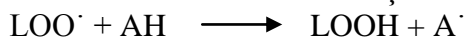
**Taukos un eļļās atļautie antioksidanti / Permitted antioxidants in foods**  
(ES regula EKR 1129/2011)

Nr.p.k. / No	Pārtikas produktu grupa / Food group	Piedevas nosaukums / Name of the additive	E numurs / E number	Maksimālā deva un lietošana / The maximum dose and use
1.	Dzīvnieku tauki un eļļas / Animal fats and oils	Gallāti / Gallates	E 310–312	200 mg kg <sup>-1</sup>
		TBHQ	E319	100 mg kg <sup>-1</sup>
		BHA	E 320	
		BHT	E 321	
		Rozmarīna ekstrakts / Rosemary extract	E 392	50 mg kg <sup>-1</sup>
2.	Augu eļļas un tauki / Vegetable oils and fats	Gallāti / Gallates	E 310–312	200 mg kg <sup>-1</sup>
		TBHQ	E319	100 mg kg <sup>-1</sup>
		BHA	E 320	
		BHT	E 321	
		Rozmarīna ekstrakts / Rosemary extract	E 392	30 mg kg <sup>-1</sup>

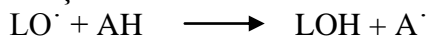
**2. Pēc darbības mehānisma** inhibitorus (antioksidantus) var iedalīt 2 pamatgrupās – tiešajos un netiešajos.

**Tiešie antioksidanti** jeb ķēdes pārtraucēji ir savienojumi, kuri aktīvi kavē autooksidācijas procesa ierosināšanas vai sazaršanās posmus. Antioksidanti reaģējot ar augstas enerģijas lipīdu radikāļiem, pārvērš tos termiski stabilākos produktos, tādā veidā deaktivējot brīvos radikāļus un apspiežot brīvo radikāļu un ROS veidošanos, samazinot oksidēšanās ātrumu (Naczk, Shahidi, 2003). Tiešie antioksidanti ir mono-

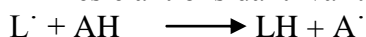
vai polifenoli ar dažādiem aizvietotājiem ciklā. Šie savienojumi reaģē ar lipīdu un peroksīda radikāļiem, pārvēršot tos stabilos un neradikālos produktos. Reakcijās tiešie antioksidanti atdod ūdeņraža atomu lipīdu radikāļiem:



Rezultātā rodas lipīdu atvasinājumi un antioksidantu radikāļi ( $\text{A}\cdot$ ), kuri ir daudz stabilāki un nepiedalās autooksidēšanās reakcijās. Tiešie antioksidanti, no ūdeņraža atdošanas viedokļa, ir līdzīgi peroksīdu radikāļiem (Yanishlieva-Maslarova, 2000), tādēļ tie saista sazarosšanās reakcijās radušos peroksīdus un brīvo skābekli:



Tiešie antioksidanti var tieši reaģēt ar lipīdu radikāļiem (Reische et al., 2002):



Pievienojot tiešos antioksidantus autooksidācijas procesa ierosināšanas posmā vai pirms tā, tie darbojas visefektīvāk. Ja antioksidanti tiek pievienoti taukvielām, kas jau satur lielu daudzumu peroksīdu, tie ātri iztērējas un ir gandrīz neefektīvi (Yanishlieva-Maslarova, 2000).

Ir ļoti daudzas reakcijas, kur antioksidanti piedalās daļēji, un to darbības mehānismi ir nosakāmi tikai dažām no šīm reakcijām. Atkarībā no antioksidantu struktūras, oksidēšanās substrāta un oksidēšanās apstākļiem šajos procesos galvenā loma var būt dažādām blakus reakcijām, kā rezultātā antioksidantu piedalīšanās oksidēšanās ķēdes ierosināšanas un sazarosšanas blakus reakcijās var arī samazināt antioksidantu efektivitāti.

Pārtikas nozarē visbiežāk izmantotie tiešie antioksidanti ir BHA, BHT, TBHQ un gallāti, kā arī tokoferoli un karotenoīdi (Reische et al., 2002);

**Netiešie antioksidanti** ir savienojumi, kuri novērš oksidēšanos ar netiešu iedarbību, kavējot ķēdes ierosināšanas ātrumu un/vai novēršot ķēžu sazarosanos, sadaloties hidroperoksīdiem (Naczka, Shahidi, 2003). Netiešie antioksidanti veicina tiešo antioksidantu darbību, helatē metālu jonus un deaktivizē tos, deaktivizē skābekli, absorbē UV starojumu, darbojas kā skābekļa saistītāji.

Hidroperoksīda noārdītāji kavē oksidēšanos, izraisot hidroperoksīdu sadalīšanos un veidojot vai nu stabilus spirtus, vai ne-radikālu procesu neaktīvus produktus, piemēram, reducējot vai atdodot ūdeņradi. Ir savienojumi, kas var sagraut peroksīdus, pārveidojot tos par neaktīviem produktiem (selēns un tā savienojumi), kā arī sadalīt hidroperoksīdus ar ne-radikālu mehānismu, pozitīvi ietekmējot autooksidēšanās kavēšanu un antioksidantu aktivitāti lipīdos (fosfolipīdi) (Bauer et al., 1998).

Metālu helatori. Smagie metālu joni veicina oksidāciju, darbojoties kā katalizatori brīvo radikāļu reakcijās. Metālu helatori lielā mērā var palielināt oksidatīvo stabilitāti, bloķējot pro-oksīdanta metāla jonus un tādējādi ierobežojot ķēdes reakciju sākšanos, novēršot metāla veicinātu hidroperoksīdu homolīzi.

Daudzi metāla helatori ietilpst pārtikas produktos, it īpaši augos. Visizplatītākie šīs grupas pārstāvji ir fitīnskābes sāļi, fosfolipīdi un oksalāti, fosforskābe, citronskābe, vīnskābe, ābolskābe un askorbīnskābe. Piemēram, gaļas produktiem pievieno polifosfātus, lai kompleksētu dzelzi. Arī dažām aminoskābām un peptīdiem piemīt metālu helatoru īpašības.

Skābekļa saistītāji saista skābekli un novērš oksidācijas procesus. Askorbīnskābe, askorbilpalmitāts, citronskābe, nātrija eritorbāts un sulfīti ir nozīmīgi šīs grupas pārstāvji. Tādu karotenoīdu kā  $\beta$ -karotīns, likopēns, zeaksantīns, luteīns un ksantaksantīns viena no galvenajām funkcijām ir sasaistīt singlēto skābekli ( $^1\text{O}_2$ ).

Fermenti ir maz izpētīti dabiskie antioksidanti dažos pārtikas produktos, ko var izmantot, lai samazinātu lipīdu hidroperoksīdus (Yanishlieva-Maslarova, 2000).

Sinergisti ir savienojumi, kuri mijiedarbojas ar brīvo radikāļu saistītājiem (tiešajiem antioksidantiem) un atjauno to aktivitāti. Nozīmīgs sinerģisms parasti ir vērojams tad, kad tiešie antioksidanti tiek lietoti kopā ar netiešajiem antioksidantiem, piemēram, hidroperoksīdu noārdītājiem, metāla helatoriem un skābekļa saistītājiem. Piemēram, fosfolipīdi un askorbīnskābe pastiprina tokoferolu darbību. Lipofilisks askorbilpalmitāts darbojas kā sinerģists ne tikai  $\alpha$ -tokoferolam, bet arī darbojas kā radikāļu saistītājs (Niki et al., 1995).

1.5. tabulā apkopoti iepriekš aprakstītie inhibitori jeb antioksidanti, kas pārstāv vielu klases, kuras var būt dažādas pēc ķīmiskās struktūras un kam ir atšķirīgi darbības mehānismi.

1.5. tabula / Table 1.5

**Antioksidantu aktivitātes mehānismi un aktīvie savienojumi /  
Mechanisms of antioxidant activity** (Pokorny, 2000)

<b>Antioksidantu klase / Antioxidant class</b>	<b>Antioksidantu darbības mehānismi / Mechanisms of antioxidant activity</b>	<b>Antioksidantu piemēri / Examples of antioxidants</b>
Tiešie antioksidanti / <i>Proper antioxidants</i>	Inaktivē lipīdu brīvos radikāļus / <i>Inactivating lipid free radicals</i>	Fenolu savienojumi / <i>Phenolic compounds</i>
Hidroperoksīda stabilizētāji / <i>Hydroperoxide stabiliser</i>	Novērš hidroperoksīdu sadalīšanos par brīvajiem radikāļiem / <i>Preventing decomposition of hydroperoxides into free radicals</i>	Fenolu savienojumi / <i>Phenolic compounds</i>
Sinergisti / <i>Synergists</i>	Veicina tiešo antioksidantu darbību / <i>Promoting activity of proper antioxidants</i>	Citronskābe, askorbīnskābe / <i>Citric acid, ascorbic acid</i>
Metālu helatori / <i>Metal chelators</i>	Saista metālus neaktīvos savienojumos / <i>Binding heavy metals into inactive compounds</i>	Fosforskābe, Majjāra savienojumi, citronskābe / <i>Phosphoric acid, Maillard compounds, citric acid</i>
Singletā skābekļa kavētāji / <i>Singlet oxygen quenchers</i>	Pārveido singletu skābekli par tripletu skābekli / <i>Transforming singlet oxygen into triplet oxygen</i>	Karotīni / <i>Carotenoids</i>
Vielas, kas reducē hidroperoksīdus / <i>Substances reducing hydroperoxides</i>	Reducē hidroperoksīdus ne-radikālā veidā / <i>Reducing hydroperoxides in a non-radical way</i>	Proteīni, aminoskābes / <i>Proteins, amino acids</i>

Inhibitoru ķīmiskās reakcijas var grupēt pēc ūdeņraža atomu vai elektronu pārneses. Fenolu savienojumiem raksturīgas abas šīs reakcijas, līdz ar to ir pamats tos uztvert kā vienus no efektīvākajiem inhibitoriem (Kwak et al., 2013). Antioksidantus izmanto ļoti dažādos pārtikas produktos, un to aktivitāti ietekmē dažādi faktori (substrāts, temperatūra, pārtikas sastāvs un struktūra, gaisma, skābekļa klātbūtne, pašu antioksidantu polaritāte, metālu klātbūtne u.c.) (Chen, Ho, 1997; Chaiyasit et al., 2007; Shahidi, Zhong, 2011; Alam et al., 2013).

**1.3.3. Fenolu savienojumu antioksidatīvās īpašības /  
Antioxidant properties of phenolic compounds**

Pēdējos divdesmit gados ir būtiski augusi fenolu kā antioksidantu popularitāte. Tiek attīstītas jaunas zinātniskās metodes, lai mērītu fenolu savienojumu saturu vai AA augos, pārtikā un pārtikas izejvielās (Naczka, Shahidi, 2003, 2004a; Kammerer et al., 2012), kā arī veidotas metodes, lai noteiktu fenolu antioksidantu efektivitāti lipīdos un pārtikas modeļu sistēmās (Decker et al., 2005).

Pētījumos ir veiksmīgi identificētas un definētas vispārinātas sakarības starp fenolu savienojumu struktūru un to spēju darboties kā oksidēšanās kavētājiem (Chen, Ho, 1997; Chaiyasit et al., 2007; Shahidi, Zhong, 2011). Visspēcīgākie fenolu antioksidanti ir savienojumi, kuri satur elektronu donoru grupas pie aromātiskā

gredzena (Hoelz et al., 2010). Polifenolu AA ir daudz augstāka nekā monofenoliem, un glikozīdi ir mazāk efektīvi antioksidanti nekā aglikoni (Plumb et al., 1999).

Ķīmiski fenoli ir ļoti aktīvas vielas. Visi fenoli spēj piedalīties ūdeņraža piesaistīšanā. Tas var notikt iekšmolekulāri vai starpmolekulāri, kas nodrošina mijiedarbību starp augu fenoliem un proteīnu peptīdu saitēm un fermentiem. Hidroksilgrupas novietojums aromātiskajā gredzenā ir primāri svarīgs, nosakot antioksidantu aktivitāti (Chen, Ho, 1997).

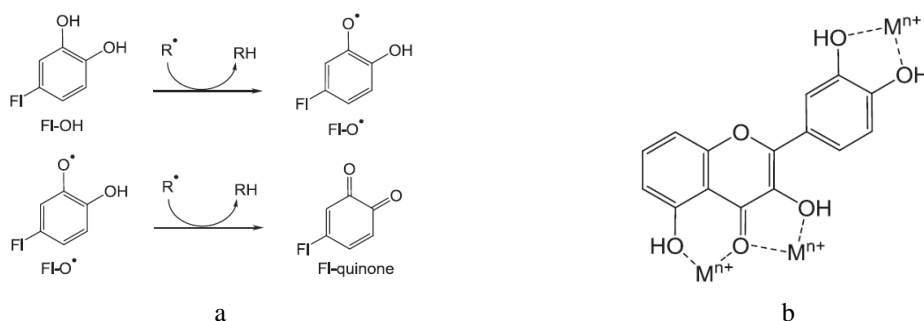
Pētījumi parāda dažādas kopējā fenolu satura un AA korelācijas tendences, kas var svārstīties no ļoti ciešas (līčijas sēkļu ekstraktiem  $r = 0,98$  (Prasad et al., 2009) un zaļajām sinepēm  $r = 0,95$  (Fang et al., 2008)) līdz ļoti vājai (augļu spiedpalieku ekstraktos ( $r = 0,36$ ) (Babbar et al., 2011)). Pēc daudzajiem pētījumiem, kas novēroti konkrētu pārtikas produktu sistēmās, var daļēji prognozēt antioksidantu izpausmi citās pārtikas matricās (Hu et al., 2010; Sulaiman et al., 2011). Ja ir spēcīgas korelācijas starp fenolu saturu un AA, var prognozēt, ka fenoli lielā mērā darbojas kā antioksidanti. Savukārt, ja sakarība ir vāja, ir ievērojams daudzums citu savienojumu, kuri nav fenoli, bet darbojas kā antioksidanti. Šos savienojumus nevar noteikt, izmantojot kopējo fenolu testus. Var būt iespējama sinerģiska un antagonistiska ietekme, kas var rasties sistēmas ietvaros, pamatojoties uz papildu sastāvdaļām, kā arī mijiedarbību starp fenolu savienojumiem un pārtikas produkta matricu (Hu et al., 2010; Sulaiman et al., 2011).

Kaut fenolu satura pārbaude daudzos gadījumos var sniegt norādes par iespējamo antioksidantu aktivitāti ekstraktos, to nedrīkst pielīdzināt attiecīgā ekstrakta efektivitātei katrā konkrētā pārtikas produktā, jo tas būs ļoti atkarīgs no dažādiem apstākļiem (substrāta, temperatūras, gaismas, skābekļa spiediena, polaritātes un metālu klātbūtnes) (Chen, Ho, 1997; Chaiyasit et al., 2007; Shahidi, Zhong, 2011).

Flavonoīdos AA palielinās lineāri, palielinoties brīvo hidroksilgrupu skaitam (Lien et al., 1999). Flavonoīdi spēj darboties kā antioksidanti vairākos virzienos:

1. tieši saistot skābekļa aktīvās formas (ROS) (Pietta, 2000);
2. aktivizējot antioksidantu fermentus (Nijveldt et al., 2001);
3. darbojoties kā metāla helatori (Ferrali et al., 1997);
4. samazinot  $\alpha$ -tokoferola radikāļus (Heim et al., 2002);
5. kavējot oksidāzes (Heim et al., 2002);
6. mazinot slāpekļa oksīda izraisītu oksidatīvo stresu (van Acker et al., 1995);
7. palielinot urīnskābes līmeni (Lotito, Frei, 2006).

Daži no tiem shematiski ir attēloti arī 1.3. attēlā:



**1.3. att. Radikāļu inaktivēšana ar flavonoīdiem (a), metālu jonu piesaistes vietas (b) / Fig. 1.3. Scavenging of reactive oxygen species (R•) by flavonoid (a), binding sites for trace metals (b) (Pietta, 2000)**

Tāpat atsevišķi flavonoīdi darbojas kā singletā skābekļa apspiedēji ( $^1\text{O}_2$ ) (Criado et al., 1995), metālu helatori (Rammanathan, Das, 1993), kā arī lipoksiģenēzes (LOX) kavētāji (Richard-Forget et al., 1995). Maksimālai radikāļu saistīšanas aktivitātei flavonoīdu molekulai jāatbilst vairākiem kritērijiem: (1) 3',4'-dihidroksi struktūra B-gredzenā, (2) 2,3-dubultsaite savienošanai ar 4-okso grupu C-gredzenā, (3) 3-hidroksil grupas klātbūtne C-gredzenā un 5-hidroksil grupa A-gredzenā (Rice-Evans et al., 1996). Flavonoīdi ar brīvu hidroksilgrupu darbojas kā brīvo radikāļu saistītāji, un vairākas hidroksilgrupas (īpaši B-gredzenā) uzlabo to antioksidantu aktivitāti (Rice-Evans et al., 1996).

Kanēļskābes atvasinājumi ir daudz aktīvāki antioksidanti nekā benzoscābes atvasinājumi (Chen, Ho, 1997; Natella et al., 1999), kā arī divu fenolskābju kombinācija palielina efektivitāti (piemēram, rozmarīnskābe ir labāks antioksidants nekā kafijskābe). Kafijskābes esterificēšana ar cukura daļu samazina tās aktivitāti (piemēram, hlorogēnskābe ir mazāk efektīva nekā kafijskābe) (Chen, Ho, 1997). Antioksidantiem (hidroksibenzoscābes un hidroksikanēļskābes) specifiski mijiedarbojoties ar citiem savienojumiem (piemēram, emulgētājiem) iekšmolekulārās udeņraža saitēm, iespējams, ir svarīga loma antioksidantu aktivitātes samazināšanā (Natella et al., 1999).

Flavonoīdi noteiktos apstākļos var darboties kā prooksidanti un tādā veidā veicināt citu savienojumu oksidāciju (Cao et al., 1997). Prooksidantu darbība, domājams, ir tieši proporcionāla kopējam hidroksilgrupu skaitam flavonoīdu molekulā (Cao et al., 1997), bet vairākas hidroksilgrupas, jo īpaši B-gredzenā, ievērojami pastiprina hidroksilradikāļu veidošanos Fentona reakcijā (Heim et al., 2002). Ir arī pierādījumi, ka 2,3-dubultsaite un 4-oksi flavonu izkārtojums var veicināt ROS veidošanos, kas tiek katalizēts ar divvērtīgo vara oksīdu (Torres et al., 2005). Flavonoīdu prooksidantu īpašības ir atkarīgas no to koncentrācijas, bet šī robeža katram savienojumam ir atšķirīga (Yen et al., 2003). Ja devas ir lielākas, flavonoīdi var darboties kā mutagēnu pro-oksidanti, kas rada brīvos radikāļus, un kā inhibitori galveno iesaistīto fermentu hormonu metabolismā (Skibola, Smith, 2000). Flavonoīdiem saistoties ar ROS, gala produkti ir flavonoīdu fenoksilradikāļi ( $\text{Fl-O}^\bullet$ ), kuru dzīves ilgums ir 200 μs (mikrosekundes) (Bayrakçeken, Karaaslan, 2003). Tie ir vairāk reaktīvi un pakļauti turpmākai oksidācijai (Torres et al., 2005).

Vēl viena reakcija, kas var būt atbildīga par nevēlamām flavonoīdu prooksidantu īpašībām, varētu būt fenoksilradikāļa mijiedarbība ar skābekli, ja ir liels pārejas metālu saturs, kā rezultātā rodas hinoni un  $\text{O}_2^\bullet$  (Pietta, 2000).

Fenoksilradikāļu avots tik pat labi varētu būt arī autooksidācija (Belitz et al., 2009).

Atsevišķu flavonoīdu prooksidantu vai antioksidantu īpašības ir visvairāk atkarīgas no to koncentrācijas. Tomēr nav pareizi apskatīt to prooksidantu īpašības tikai kā toksiskas. Tās varbūt saistītas ar šūnu signalizēšanu, ar ko flavonoīdi sekmē šūnu funkciju koordināciju (Natella et al., 2002). Flavonoīdu spējas stimulēt detoksikācijas fermentus ir galvenais mehānisms, ar kuru flavonoīdi aizsargā organismu pret mutagēniem un kancerogēnām vielām (Lotito, Frei, 2006).

Krustziežu dzimtas augiem, kā brokoļiem (*Brassica oleracea* L.), konstatētas aizsargspējas pret dažādiem ROS, iespējams, pateicoties C vitamīna, kvercetinā, kaempferolā, luteīnā un zeaksantīnā (Kurilich et al., 2002),  $\alpha$ -tokoferolā,  $\gamma$ -tokoferolā un  $\beta$ -karotīnā klātbūtnei (Eberhardt et al., 2005). To biopieejamībai ir būtiska nozīme, novērtējot šo savienojumu lomu cilvēka organismā (Peñas et al., 2013).

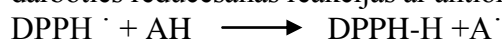
### 1.3.4. Antioksidantu aktivitātes novērtēšanas metodes / *Methods for evaluation of antioxidant activity*

Tā kā antioksidanti darbojas pēc dažādiem mehānismiem, tad arī atbildes reakciju veidi brīvo radikāļu vai oksidēšanās avotu neitralizēšanai ir atšķirīgi. Tāpēc nepieciešami vairāki testi, lai gūtu pilnīgāku skatījumu uz kopējo antioksidatīvo aktivitāti (Alam et al., 2013). Daudzās antioksidantu novērtēšanas metodes grupējamas pēc ķīmiskajām reakcijām (Schaich, 2006). Faktiski nevar tieši salīdzināt dažādus antioksidantu aktivitātes novērtēšanas mehānismus (Bhagwat et al., 2007), jo dažādi mehānismi var uzrādīt dažādu antioksidantu aktivitāti atkarībā no antioksidantu sastāva paraugā (Ou et al., 2001), kā arī dažādu analizējamo pārtikas produktu sastāvā var būt savienojumi, kuri ietekmē testa rezultātus (Prior, Gu, 2005).

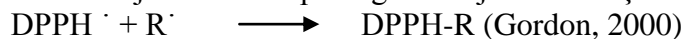
Laboratorijās izmanto dažādus testus antioksidantu aktivitātes mērīšanai un analizēšanai. Tā, piemēram, tiobarbiturskābes metode, malondialdehīda/augstas izšķirtspējas šķidrums hromatogrāfijas metode, malondialdehīda/gāzu hromatogrāfijas metode, β-karotīna balināšanas tests un konjugēto diēnu metode ir saistīta ar lipīdu peroksidāciju. Savukārt ar elektronu un radikāļu saistīšanas spējām ir saistīti tādi testi kā 2,2-difenil-1-pikrilhidrazils (DPPH<sup>·</sup>), 2,2-azino-bis (3-etilbenzotiazolina-6-sulfonskābe) (ABTS<sup>·+</sup>), trīsvērtīgā dzelzs samazināšanas/reducēšanās spēja, divvērtīgās dzelzs oksidācijas tests ar ksilenoranžo, dzelzs tiocianāta metode, aldehīda/karbonskābes tests (Kamiyama et al., 2013). Ir metodes, ar kurām nosaka kopējo antioksidantu aktivitāti, un metodes, ar kurām nosaka un analizē konkrētu savienojumu daudzumu.

Radikāļu saistīšana ir galvenais antioksidantu darbības mehānisms pārtikā. Attīstītas daudzas metodes, kurās antioksidantu aktivitāti novērtē pēc radikāļu saistīšanas polāros organiskajos šķīdinātajos istabas temperatūrā, tādējādi novēršot testējamo molekulu termiskās degradācijas risku (Bondet et al., 1997). Visbiežāk izmantotās kopējās antioksidatīvās aktivitātes novērtēšanas metodes ir ABTS<sup>·+</sup> un DPPH<sup>·</sup>, kurām par standarta antioksidantu izmanto troloku (Pisochi et al., 2009). Šīs spektrofotometriskās antioksidantu aktivitātes mērīšanas metodes galvenokārt izmanto brīvo radikāļu, kā 1,1-difenil-2-pikrilhidrazil (DPPH<sup>·</sup>) (Aquino et al., 2001), 2,2-azino-bis(3-etilbenzotiazoline-6-sulfonskābes) (ABTS<sup>·+</sup>) (Alzoreky, Nakahara, 2001) u.c., saistīšanai ar antioksidantiem. Tām abām ir raksturīga lieliska reproducējamība konkrētos pārbaudes apstākļos, bet tās arī uzrāda ievērojamas atšķirības savā reakcijā uz antioksidantiem (Wojdjo et al., 2007).

Novērtējot antiradikālo aktivitāti (ArA) jeb tiešo antioksidantu aktivitāti ar DPPH<sup>·</sup>, tiek mērīta paraugā esošo savienojumu ūdeņraža atomu vai elektronu donoru spēja samazināt DPPH<sup>·</sup> radikāļa saturu šķīdumā. DPPH<sup>·</sup> molekula tiek raksturota kā stabils brīvais radikālis, pamatojoties uz brīvo elektronu pāru pārvietošanos ap molekulas kodolu, tādā veidā molekula nav dimerizēta, kā tas būtu gadījumā ar lielāko daļu citu brīvo radikāļu. Elektronu delokalizācija arī rada izteikti violetu krāsu, ko raksturo absorbcijas joslas etanola šķīdumā pie 517 nm. Ja DPPH<sup>·</sup> šķīdums ir sajaukts ar substrātu, kas var atdot ūdeņraža atomu, tad tas izraisa violetās krāsas samazināšanos, tādēļ absorbcijas samazināšanās ir lineāri atkarīga no antioksidantu aktivitātes (Pisochi et al., 2009). Šajā testā DPPH<sup>·</sup> var darboties reducēšanas reakcijās ar antioksidantu (AH):



vai reakcijās ar citiem paraugā esošajiem radikāļiem (R<sup>·</sup>):





DPPH<sup>•</sup> ātri reaģē ar dažiem fenoliem, piemēram,  $\alpha$ -tokoferolu, bet sekundārās reakcijas notiek lēnām, kas var izraisīt pakāpenisku absorbcijas samazināšanos, kura var turpināties vairākas stundas.

ABTS<sup>+</sup> ir stabils radikālis, kurš nav atrodams cilvēka organismā un ir daudz reaktīvāks nekā DPPH<sup>•</sup> radikālis. ABTS radikāla katjonu reakcijas ar antioksidantu pilnībā notiek ātrāk nekā milisekundē (Naik et al., 2003). ABTS<sup>+</sup> šķīdums ir izteikti zili zaļā krāsā un, jo spēcīgāki antioksidanti ir analizētajā paraugā, jo vairāk atkrāsojas reaģējošais šķīdums. Antioksidanti reducē radikāļus no ABTS<sup>+</sup> uz ABTS un to atkrāso. ABTS<sup>+</sup> reaģē ar lielāko daļu antioksidantu, to neietekmē jonu spēks un to izmanto, lai noteiktu gan hidrofilu, gan hidrofobu antioksidantu aktivitāti (Martysiak-Żurowska, Wenta, 2012).

**Reducēšanas spēja (RS)** asociējas ar netiešajiem antioksidantiem un var kalpot par ievērojamu to aktivitātes atspoguļojumu (Oktay et al., 2003). Savienojumi ar reducēšanas spēju norāda, ka tie ir elektronu donori un var samazināt lipīdu oksidēšanās stimulatorus oksidācijas procesos, tādā veidā tie varētu darboties kā tiešie un netiešie antioksidanti (Yen, Chen, 1995). Literatūras ziņojumi liecina, ka augu un garšaugu antioksidantu aktivitāte ir saistīta ar to reducēšanas spēju, kas izbeidz radikāļu ķēdes reakcijas (Singh, Rajini, 2004). Reducēšanas spējas pārbaudē reduktanti (antioksidanti) testa savienojumā vai ekstraktā reducē Fe<sup>3+</sup> / cianoferiāta kompleksā [FeCl<sub>3</sub>/K<sub>3</sub>Fe(CN)<sub>6</sub>] uz dzelzs (Fe<sup>2+</sup>) formu (Chung et al., 2002). Šī metode pamatojas uz reaģējošā maisījuma absorbcijas palielināšanos, tāpēc atkarībā no testējamā parauga reducēšanas spējas, testa šķīduma dzeltenā krāsa izmainās dažādos toņos zaļā vai zilā krāsā (Amarowicz et al., 2004). Šajā metodē antioksidantu savienojumi reaģē ar kālija cianoferiātu, trihloreiķskābi un dzelzs hlorīdu un absorbciju nosaka pie 700 nm. Reaģējošā maisījuma absorbcijas palielinājums norāda uz parauga reducēšanas spēju (Jayaprakash et al., 2001), kas var būt nozīmīgs potenciāls antioksidantu aktivitātes rādītājs (Yildirim et al., 2000). Reduktantu esamība ir reducēšanas spējas atslēga, kas uzrāda to antioksidantu aktivitāti ar brīvo radikāļu ķēdes pārtraukšanu, atdodot ūdeņraža atomus (Xing et al., 2005).

Visi šie testi ir noderīgi, ņemot vērā to jutīgumu un minimālu paraugu sagatavošanu, un tādējādi tiek plaši izmantoti paraugu bioķīmiskajās analīzēs (Alam et al., 2013). Šīs metodes var būt noderīgas antioksidantu skrīningam, bet to efektivitāte pārtikā vienmēr jāizpēta reālās pārtikas matricās, jo antioksidantu darbība pārtikas produktos ir atkarīga no dažādiem faktoriem, tostarp polaritātes, šķīdības un metāla-helatoru aktivitātes (Chen, Ho, 1997; Chaiyasit et al., 2007; Shahidi, Zhong, 2011; Alam et al., 2013).

#### 1.4. Dabīgo antioksidantu izdalīšana / *Isolation of natural antioxidants*

Pētījumi parāda, ka dažiem pārtikas rūpniecībā izmantotiem sintētiskajiem un mākslīgajiem antioksidantiem (piemēram, BHA, BHT, TBHQ un propilgallātam) ir nevēlama ietekme uz cilvēka organismu, un no drošuma viedokļa to izmantošana tiek apšaubīta (Wang et al., 2008). Šīs problēmas risināšanai veikti pētījumi, lai atrastu dabiskus produktus, kam piemīt antioksidantu aktivitāte (AA) (Proestos et al., 2010). Dažādos augos, ieskaitot garšaugus un garšvielas, ir daudz fitosavienojumu, kas varētu būt potenciāli dabisko antioksidantu avoti.

Augu materiālam piemīt kompleksa daba, un tajos esošo savienojumu izdalīšanu ietekmē ekstrakcijas nosacījumi, kā temperatūra, mehāniskā iedarbība (spiediens, maisīšana), šķīdinātāja veids un izdalāmā savienojuma šķīdība. Šķīdinātāja efektivitāte ir atkarīga no šķīdinātāja polaritātes un fizikālajiem parametriem. Antioksidantu

gadījumā tādām garšvielām kā rozmarīns un salvija viens no galvenajiem polārajiem savienojumiem ir rozmarīnskābe, kura ir ūdenī šķīstoša. Oregano arī satur rozmarīnskābi, dažus flavonoīdus un ūdenī ekstrahējamās vielas, kuras ir uzrādījušas augstu antioksidantu aktivitāti (Moller et al., 1999).

Lai gan priekšstats par dabīgo antioksidantu lietošanu pārtikas produktu lipīdu oksidēšanās kavēšanai ir daudzsološs, lai palielinātu komerciālo ieinteresētību, vajadzētu attīstīt un pilnveidot standarta procedūras šo savienojumu ekstrahēšanai no augu materiāliem. Pētnieki parasti izmanto dažādas ekstrakcijas metodes, kuras visbiežāk tiek bāzētas uz parametriem, kas vislabāk darbojas viņu detalizētajos pētījumos. Dažādība ekstrakcijas procedūrās ietver ekstrakcijas laika svārstības no 30 sekundēm līdz 96 stundām un šķīdinātāja attiecību pret parauga masu no 2 līdz 200 (Bohm, 1998).

Fakts, ka viens augs spēj saturēt pat vairākus tūkstošus sekundāro metabolītu, rada nepieciešamību attīstīt ātras un efektīvas ekstrahēšanas metodes (Mandal et al., 2007a). Bieži ekstrakcija tiek veikta, izmantojot tradicionālās metodes, ieskaitot Soksleta ekstrakcijas metodi, kā arī konvencionālo ekstrakciju ar maisīšanu vai macerāciju. Tiek meklētas arī jaunas ekstrakcijas procedūras, lai samazinātu ekstrakcijas laiku un šķīdinātāja patēriņu, palielinātu apstrādājamā parauga apjomu un uzlabotu vēlamā savienojuma iznākumu. Dažas no šīm jaunajām metodēm ietver virskritiskā stāvokļa ekstrakciju, zemkritiskā stāvokļa ekstrakciju, paātrināto ekstrakciju, ultraskaņas un mikroviļņu veicinātu ekstrakciju (Angela, Meireles, 2009).

Lai ekstraktā pēc iespējas vairāk saglabātu vajadzīgos savienojumus, nodrošinātu lielāku iznākumu un garantētu ķīmisko savienojumu stabilitāti, ir jābūt zināmai šo savienojumu dabai, rūpīgi jāveic atlasīšanas kārtība, kā arī jāizvēlas optimālie tehnoloģiskie parametri. Daudzas ekstrakcijas metodes sastāv no manipulēšanas ar šķīdinātāju fizikālajām īpašībām, lai samazinātu virsmas spraigumu, cietās fāzes šķīdību un sekmētu difūzijas proporcijas, kā rezultātā dažreiz mainās šķīdinātāja polaritāte (Angela, Meireles, 2009).

Ekstrahējot bioloģiski aktīvos savienojumus no augiem, var lietot dažādas ekstrahēšanas metodes, un kā ekstrakcijas šķīdinātājus galvenokārt lieto ūdeni vai organiskos šķīdinātājus (etanolu, metanolu u.c.) (Angela, Meireles, 2009).

#### **1.4.1. Cietu vielu ekstrakciju ietekmējošie faktori / *Factors affecting solids extraction***

**Ekstrakcijas materiālu sagatavošana.** Pārtikā šūnu struktūra ir nozīmīgs faktors, kas jāņem vērā. Daudzos gadījumos šķidrums ir uzkrājies starpšūnu telpā vai kapilāros, tādēļ šķīšana var notikt uz šūnu virsmas. Cietas vielas ekstrakcijas gadījumā šķīdinātāja uzdevuma izpilde lielā mērā ir atkarīga no cietās vielas stāvokļa. Viens no pirmapstrādes soļiem, ir izejvielas sasmalcināšana, kas nodrošina palielinātu saskarsmes virsmu ar šķīdinātāju; piemēram, kafijas rūpniecībā pupiņu šūnas tiek sadalītas 3–5 daļās, savukārt cukura rūpniecībā, ekstrahējot cukuru no cukurbietēm, ir obligāti jāsaglabā šūnu struktūra. Šajā gadījumā cukurbietes sagriež smalkās daļās, bet šūnu struktūra ir saglabāta, lai izvairītos no nevēlamu savienojumu ekstrakcijas (Angela, Meireles, 2009).

**Temperatūra.** Paaugstināta temperatūra parasti intensificē ekstrakcijas procesu (Angela, Meireles, 2009). Paaugstinātas temperatūras ietekmē:

1. palielinās savienojumu šķīdība un masas pārnese (piem., temperatūras diapazons 50–150 °C);
2. pieaug difūzijas ātrums (piem., temperatūras diapazonā no 25 līdz 150 °C)
3. samazinās šķīdinātāja polaritāte;

4. tiek vājināta un traucēta mijiedarbība starp analizējamās vielas un matricas komponentiem ar van der Vālsa spēkiem, kā arī vājinātas ūdeņraža saites;
5. samazinās šķīdinātāja viskozitāte un virsmas spraigums, kas ļauj tam labāk iekļūt matricas porās un starp matricas daļiņām, uzlabojot masas pārnesei (piemēram, temperatūrai pieaugot no 25 līdz 200 °C, 2-propanola viskozitāte samazinās 9 reizes) (Giergielewicz-Moajska et al., 2001; Ong et al., 2006).

Tomēr pārtikas rūpniecībā paaugstinātas temperatūras lietošana var veicināt nevēlamas reakcijas: termolabīlu savienojumu degradēšanos un hidrolīzi (Angela, Meireles, 2009). Arī dažādu augu fenolu savienojumu termostabilitāte ir dažāda, tā, piemēram, mango mizā esošie ir termonestabili (Dorta et al., 2012). Savukārt saldajos kartupeļos un sīpolos pēc termiskās apstrādes fenolu savienojumu saturs bija lielāks nekā svaigos (Arslan, Musa Özcan, 2010; Yang et al., 2010).

**Šķīdinātāji.** Veicot ekstrakcijas šķīdinātāju atlasī, jāņem vērā fizikāli ķīmiskās īpašības, izmaksas, toksiskums, selektivitāte, ekstrahējamās vielas šķīdība, viskozitāte un stabilitāte. Šķīdinātājam ir arī svarīga loma, nodrošinot saistītu savienojumu šķīšanu ekstrakcijas procesā (Angela, Meireles, 2009). Pētījumi liecina, ka flavonoīdus iespējams ekstrahēt ar polāriem šķīdinātājiem, tādiem kā etanols, metanols, ūdens un to kombinācijas (Do et al., 2014). Saskaņā ar labas ražošanas praksi cilvēka patēriņam paredzētos produktos ir pieļauta tādu šķīdinātāju kā acetona, etanola, etilacetāta, 1-propanola, 2-propanola un propilacetāta klātbūtne mazos daudzumos (Angela, Meireles, 2009).

**Šķīdinātāja un cietas vielas proporcija.** Šķīdinātāja proporcija ir faktors, kas ietekmē ekstrakciju, jo īpaši tradicionālajās ekstrakcijas metodēs. Ir svarīgi izmantot pietiekami šķīdinātāja, lai ekstrakcijā nerastos piesātināts šķīdums, kas kavētu tālāku ekstrahējamo savienojumu šķīšanu šķīdinātājā (Angela, Meireles, 2009). Izplatīta cietas vielas un šķīdinātāja proporcija ir 1:10. Ballard T.S. ar kolēģiem (2010) pētījumos par polifenolu savienojumiem zemesriekstu čaumalās konstatēja, ka, ekstrahējot ar 30% etanola, vairāk savienojumu iespējams atdalīt, izmantojot proporciju 1:15. Tradicionālajās ekstrakcijas metodēs ekstrakta iznākums galvenokārt pieaug, pieaugot šķīdinātāja tilpumam (Mandal et al., 2007a).

#### 1.4.2. Cieto vielu ekstrakcijas metodes / *Solids extraction methods*

**Konvencionālā ekstrakcija (CONV)** ir viena no vecākajām metodēm ķīmiskajā rūpniecībā. Šī ekstrakcijas metode pamatojas uz masas transportu un līdzsvaru starp fāzēm, ar papildus karsēšanu vai bez tās (Angela, Meireles, 2009).

Konvencionālā ekstrakcija notiek ar selektīvu cietās fāzes izšķīdināšanu vienā vai vairākos šķīdinātājos (Angela, Meireles, 2009). Tās pamatā ir plānotā savienojuma pārvietošana no produkta, lietojot šķīdrumu (parasti organisko šķīdinātāju), kurš ir spējīgs izšķīdināt vajadzīgo savienojumu (Fellow, 2000). Ekstrakciju var iedalīt četrās stadijās:

1. šķīdinātāja iespiešanās cietajā matricā;
2. savienojuma izšķīšana šķīdinātājā;
3. šķīduma difūzija caur cieto matricu uz tās virsmu;
4. šķīduma pārnese šķīdinātāja tilpumā (Fellow, 2000).

Šķīdinātāja mijiedarbību ar cieto vielu ietekmē ekstrakcijas temperatūra, materiāla virsmas laukums, šķīdinātāja viskozitāte un plūsmas ātrums (Fellow, 2000). Literatūrā ir sastopami pretrunīgi dati par to, kuram šķīdinātājam ir vislielākā efektivitāte, lietojot konvencionālo ekstrakcijas metodi. Šķīdinātāja izvēle būs atkarīga no daudziem minētajiem faktoriem, ieskaitot šķīdinātāja spēju šķīdināt plānoto savienojumu, ekstrakcijas temperatūra, daļiņu izmērs, kā arī augu materiāla veids un īpašības. Gadu

gaitā daudzi pētnieki ir pielāgojuši konvencionālo ekstrakciju, lai ekstrahētu plašu savienojumu klāstu (ieskaitot fenolu antioksidantus) no liela skaita dabiskas izcelsmes avotu (Santas et al., 2009; Kong et al., 2010).

**Soksleta ekstrakcija (SOXE)** ir nepārtrauktas darbības ekstrakcija. To veic hermētiski noslēgtā nepārtrauktas darbības ekstraktorā – Soksleta aparātā, kur ekstraktors apakšā savienots ar apaļkolbu, bet augšā ar atteces dzesinātāju. Apaļkolbā nepārtraukti tiek vārīts šķīdinātājs, un ekstrakcija notiek visu laiku ar svaigu šķīdinātāju. Šķīdinātāja tvaiki no apaļkolbas nonāk līdz atteces dzesinātājam, kondensējas un tālāk uzkrājas ekstraktorā, šķīdinot ekstrahējamās vielas no parauga. Šķīdinātājs, ekstraktorā sasniedzot noteiktu līmeni, automātiski tiek nosūkts pa sifona cauruli atpakaļ kolbā. Soksleta ekstrakcijas metode tiek veiksmīgi lietota, ekstrahējot dabīgos antioksidantus, tajā skaitā fenolu savienojumus, izmantojot gan metanolu, gan etanolu, gan arī citus šķīdinātājus (Nićiforović et al., 2010; Hsouna et al., 2011).

Šī metode asociējas ar lielu šķīdinātāja apjoma patēriņu, garāku ekstrakcijas laiku un palielinātu risku termiski degradēt termonestabilus savienojumus (Luque de Castro, Priego-Capote, 2011). Soksleta ekstrakcijas metode ir nozīmīgākā starp visām tradicionālajām ekstrakcijas metodēm, pat tad, ja tā prasa ilgu paraugu ekstrakcijas laiku (pat 24 stundas un vairāk) un lielu enerģijas patēriņu.

**Mikroviļņu veicinātas ekstrakcijas** (*microwave assisted extraction – MAE*) pamatojas uz mikroviļņu tiešu iedarbību uz molekulām, kurām piemīt jonu vadītspēja (Hemwimon et al., 2007). Mikroviļņu enerģija galvenokārt karsē molekulas materiāla iekšienē. Šī enerģija tiek izplatīta kā viļņi, kuri var iespieties biomateriālā un savstarpēji iedarboties uz polārām molekulām (tādām kā ūdens, etanols) materiāla iekšienē, ģenerējot siltumu. Rezultātā auga šūnas iekšpusē palielinās spiediens, kas noved pie šūnapvalka pārraušanas un fitosavienojumu atbrīvošanas (Wu et al., 2012).

Ir divi mikroviļņu ierosināti karsēšanas mehānismi: dipolu rotācija un jonu polarizēšanās. Dipolu rotācijas mehānisms pamatojas uz faktu, ka daudzas molekulas eksistē kā elektriski dipoli (molekulai ir gan negatīvi, gan pozitīvi lādēts gals). Piemēram, H<sub>2</sub>O sastāv no diviem ūdeņraža atomiem ar daļēji pozitīvu lādiņu un viena skābekļa atoma ar daļēji negatīvu lādiņu. Kad ūdeni ievieto elektromagnētiskajā laukā, dipoli mēģina orientēties saskaņā ar lauka polaritāti, kura mainās aptuveni  $4,9 \times 10^9$  reizes sekundē (Camel, 2000). Konstanta molekulu rotācija noved pie berzes radītas sakaršanas.

Mikroviļņu veicināta ekstrakcija ir alternatīva zema spiediena ekstrakcijai, pateicoties tās priekšrocībām salīdzinājumā ar daudzām tradicionālajām ekstrahēšanas metodēm – mazāks ekstrakcijas laiks, mazāks šķīdinātāja tilpums, selektivitāte un kontrolējama silšana. Tieši šī karsēšana ļauj būtiski samazināt ekstrakcijas laiku un ietaupīt enerģiju, salīdzinot ar tradicionālajām ekstrakcijas metodēm (Luque de Castro, Priego-capote, 2011).

Liela atšķirība starp mikroviļņu veicinātu ekstrakciju un tradicionālo cietas vielas šķīdinātāja ekstrakciju ir mikroviļņu ietekme uz šķīdinātāju un cietās vielas šūnu struktūru. Lai optimizētu mikroviļņu veicinātas ekstrakcijas metodi, īpaša uzmanība jāvelti tādiem faktoriem kā temperatūra, šķīdinātājs, šķīdinātāja tilpums, ekstrakcijas laiks un cietas vielas matrica.

Šķīdinātājs – izvēloties šķīdinātāju, jāņem vērā tā dielektriskās īpašības, kas nosaka mikroviļņu enerģijas absorbciju (Angela, Meireles, 2009). Parasti mikroviļņu veicinātā ekstrakcijā lietotie šķīdinātāji ir metanols, etanols, acetons, heksāns, H<sub>2</sub>O un to maisījumi. Augstas temperatūras, palielina šķīdināšanas efektivitāti, samazinot virsmas spraigumu un šķīdinātāja viskozitāti, kā rezultātā uzlabojas parauga saslapināmība un iespiešanās matricā (Eskilsson, Bjorklund, 2000).

Šķīdinātāja tilpums – mikroviļņu karsēšanas unikālā metode ļauj samazināt ekstrakcijai nepieciešamo šķīdinātāja tilpumu. Atšķirībā no tradicionālajām ekstrakcijas metodēm, mikroviļņu veicinātā ekstrakcijā vēlamo savienojumu iegūšanas apjoms nepalielinās, palielinoties šķīdinātāja tilpumam (Mandal et al., 2007b).

Ekstrakcijas laiks – mikroviļņu veicinātās ekstrakcijas ir ātras, salīdzinot ar konvenciālo ekstrakcijas metodi. Pārtikas produktiem ekstrakcijas laiks svārstās no 3 līdz 40 min atkarībā no cietās vielas matricas un ekstrahējamiem savienojumiem. Garš ekstrakcijas periods var izraisīt termolabīlu savienojumu degradāciju (Angela, Meireles, 2009).

Mikroviļņu veicinātā ekstrakcija zinātniski galvenokārt tiek fokusēta uz organisko savienojumu iegūšanu no augiem (Camel, 2000), un šī ekstrakcijas metode ir izrādījusies visefektīvākā tieši fenolu savienojumu ekstrakcijai no zemesriekstu čaumalām (Ballard et al., 2010), kā arī *Vitis vinifera*.paliekām (Casazza et al., 2010).

**Ultraskaņas veicinātu ekstrakciju** (*ultrasound assisted extraction* – UAE) veic, lietojot ultraskaņas sistēmu ar vannu. Pārtikas rūpniecībā izmanto divus ultraskaņas līmeņus: zemas intensitātes ( $<1 \text{ W cm}^{-2}$ ) un augstas intensitātes ( $10\text{--}1000 \text{ W cm}^{-2}$ ) ultraskaņu. Skaņas viļņi ir mehāniskas vibrācijas iedarbība uz cietām vielām, šķīdriem vai gāzēm ar frekvenci, kas svārstās no 2 līdz 55 kHz. Skaņas viļņiem ir būtiska atšķirība no elektromagnētiskajiem viļņiem, tiem ir vajadzīga materiāla klātbūtne, lai pārvietotos.

Kad ultraskaņas viļņi saduras ar materiāla virsmu, tiek radīts spēks, kas ir perpendikulārs vai paralēls virsmai. Ja spēks ir perpendikulārs virsmai, tiek veidots saspīests vilnis. Turpretim, ja spēks ir paralēls virsmai, tiek veidots vertikāls vilnis.

Skaņas viļņu efekts vielā ir izplešanās un saspiešanās cikli. Izplešanās var radīt burbuļus šķīdumā un radīt negatīvu spiedienu, kas var sasniegt augstu lokālu spiedienu (sākot no aptuveni 50 MPa). Turpretim burbuļu sabrukums var būt par iemeslu kavitācijai. Ja ultraskaņas intensitāte ir konstatēta, izveidojas dinamisks līdzsvars starp burbuļu formēšanos un sabrukšanu.

Šāda ātra temperatūras un spiediena izmaiņu jeb kavitācijas lokalizēšana izraisa šūnu uzpūšanos, šūnu membrānu vājināšanu un pārraušanu. Tā rezultātā notiek intensīvāka masas pārvietošanās un palielinās šķīdinātāja iespiešanās šūnās vai arī vienas šūnas satura pārplūšana otrā šūnā (Chemat et al., 2008). Kavitācijas rezultātā masas pārvietošana un ekstrakcijas ātrums, kuru ietekmē temperatūra, hidrostatisks spiediens, apstarošanas frekvence, akustiskā spēka un ultraskaņas intensitāte, ir tikpat svarīgi kā šķīdinātāja izvēle un parauga sagatavošana (Angela, Meireles, 2009). Tāpat ultraskaņas iedarbības rezultātā var paplašināties cietas vielas šūnu sienīņu poras, un tas uzlabo difūzijas procesu un palielina masas pārvietošanos (Angela, Meireles, 2009).

Ultraskaņas veicinātās ekstrakcijas metode var piedāvāt īsāku apstrādes laiku, vienkāršotas manipulācijas, samazinātu šķīdinātāja tilpumu un enerģijas patēriņu (Tabaraki, Nategi, 2011). Šīs metodes priekšrocības ir veiksmīgi lietotas dabīgo antioksidantu iegūšanai no upeņu lapām (Aybastier et al., 2013). Lietojot ultraskaņu, tāpat kā citās cietu vielu ekstrakcijas metodēs, temperatūra un šķīdinātāja polaritāte ietekmē ekstrakcijas norisi. Arī citi svarīgi faktori ietekmē ultraskaņas veicinātu ekstrakciju, tādi kā frekvence un skaņošanas laiks (Angela, Meireles, 2009).

Ultraskaņas frekvencei ir nozīmīga ietekme uz ekstrakcijas iznākumu un kinētiku. Tās ietekme ir atkarīga no materiāla struktūras un savienojumiem, kas tiek ekstrahēti (Wang, 2008; Angela, Meireles, 2009).

Pārtikas un farmācijas tehnoloģijā ultraskaņa tiek lietota, lai ekstrahētu bioloģiskos savienojumus, kā flavonoīdus, ēteriskās eļļas un alkaloīdus, polisaharīdus, esterus un

citas vielas (Angela, Meireles, 2009), kā arī fenolu savienojumu ekstrahēšanai no kviešu asniem (Wang, 2008) un izoflavonu izolēšanai no sojas pupām (Rostagno, 2003).

**Paātrinātā ekstrakcija** (*accelerated solvent extraction* – ASE) pirmo reizi analītiskajā praksē tika lietota 1995. gadā (Giergielewicz-Moajska et al., 2001), tādēļ tā ir relatīvi jauna ekstrakcijas metode. Dažas paātrinātās ekstrakcijas priekšrocības, salīdzinot ar tradicionālajām ekstrakcijas metodēm, ir būtiski samazinātais ekstrakcijas laiks (5–15 min), turklāt tā ir lietojama plašam šķīdinātāju diapazonam, pat tādiem, kas nav efektīvi tradicionālajās metodēs. Lietotais augstais spiediens ļauj ekstrahēt termolabilus savienojumus pat augstās temperatūrā (Giergielewicz-Moajska et al., 2001).

Lai ekstrahētu savienojumus no parauga matricas, šajā ekstrakcijas metodē izmanto augstu temperatūru (50–200 °C, virs šķīdinātāja viršanas punkta) un spiedienu ( $5\text{--}200 \times 10^5$  Pa), (Giergielewicz-Moajska et al., 2001).

Tipisks paātrināta ekstrakcijas process sastāv no vairākiem posmiem. Paraugi pirms ekstrakcijas parasti tiek kaltēti, smalcināti un izsijāti. Sagatavotais paraugs tiek ievietots ekstrakcijas cilindrā, un pēc kameras uzkaršanās līdz vajadzīgajai temperatūrai cilindrs tiek ievietots karsēšanas kamerā. Tad cilindrā ievada šķīdinātāju, un sākas ekstrakcijas process. Vairākkārtēja svaiga šķīdinātāja plūšana caur parauga matricu ļauj novērst viegli oksidējamu savienojumu degradāciju. Šāda pieeja ir ieteicama, lai iegūtu termiski nestabilus savienojumus.

Ekstrakcijas laikā izšķir 3 soļus:

1. desorbcija no cietām daļiņām;
2. difūzija cauri šķīdinātājam, kas atrodas daļiņu poru iekšpusē;
3. ekstraktvielu pārvietošanās uz plūstošo šķidrumu.

Katrs solis ir atkarīgs no vairākiem faktoriem, kas var mainīties ar temperatūras un spiediena modifikāciju.

Paātrinātās ekstrakcijas metodei ir vairākas priekšrocības:

1. īss ekstrakcijas laiks (parasti 15 min);
2. augsts spiediens ekstrakcijas laikā ļauj ekstrahēt termolabilus savienojumus;
3. maza šķīdinātāju tilpumu lietošana;
4. ir iespējams lietot gandrīz jebkuru šķīdinātāju;
5. var lietot vienu šķīdinātāju vai šķīdinātāju maisījumus;
6. pilnīga sistēmas automatizācija procesa kontrolei.

Šī ekstrakcijas metode netiek plaši lietota dažādu ierobežojumu dēļ:

1. ļoti augsta iekārtas cena;
2. ekstrakcija nav selektīva;
3. sistēmas skalošanai tiek lietots liels šķīdinātāja tilpums.

Paātrinātā ekstrakcija kā pilnībā automātiska metode varētu būt noderīga pārtikas vielām.

**Spiediens** – lietotās augstās temperatūras rezultātā paātrinātās ekstrakcijas laikā ekstrakcijas cilindrā jāuztur augsts spiediens ( $5\text{--}200 \times 10^5$  Pa), lai garantētu, ka šķīdinātājs paliek šķidrā agregātstāvoklī paaugstinātā temperatūrā virs viršanas punkta. Lietotais augstais spiediens arī darbojas, lai palielinātu ekstrakcijas efektivitāti, spiežot šķīdinātāju parauga porās, tādā veidā palielinot savienojumu pieejamību šķīdinātājam (Giergielewicz-Moajska et al., 2001).

**Zemkritiskā stāvokļa šķidruma ekstrakcija** (*subcritical extraction* – SUB). Arvien lielāku popularitāti sāk iegūt zemkritiskā ūdens ekstrakcija (*subcritical water extraction* – SWE), t.i., ekstrakcija, izmantojot karstu ūdeni zem spiediena, tas ir zemkritiskos apstākļos. Šis ir ekstrakcijas veids, kurā izmanto šķīdinātāju temperatūrā un spiedienā, kas nav augstāki par kritisko punktu. Šķīdinātāja polaritāti, virsmas

spraigumu un viskozitāti var mainīt, kontrolējot temperatūru un spiedienu (Wang et al., 2012). Kombinējot samazināto polaritāti un paaugstināto temperatūru, var palielināt organisko savienojumu šķīdību un selektīvāku izdalīšanu no augu materiāla (Ju, Howard, 2005). Šī ekstrakcija izmantota, lai no augu materiāliem iegūtu fenolu savienojumus un citus antioksidantus.

Zemkritiskā stāvokļa šķidrums ekstrakcija kļuvis par noderīgu instrumentu, lai aizstātu tradicionālās ekstrakcijas metodes. Tajā pašā laikā citu šķīdinātāju lietošana šajā ekstrakcijas veidā, piemēram etanola, praktiski nav izpētīta. Lietojot zemkritiskā stāvokļa ekstrakciju, izmantojot gan H<sub>2</sub>O, gan etanolu kā piedāvātos šķīdinātājus, ir iespēja samazināt vai pavisam novērst toksisku šķīdinātāju lietošanu, samazināt kaitīgo atkritumu daudzumu un paaugstināt paraugu efektīvu izmantošanu ar samazinātu ekstrakcijas laiku no cietiem paraugiem (Rodriguez-Meizoso et al., 2006; Howard, Pandjaitan, 2008), tādā veidā sasniedzot drošu, videi draudzīgu un ātru ekstrakciju (Michielin et al., 2005). Parasti šī ekstrakcija notiek temperatūrā virs 100 °C, bet zem 374 °C, kur ūdens kritiskais punkts ir 374,2 °C, 22×10<sup>5</sup> Pa un spiedienā, kurš ir pietiekami augsts, lai noturētu ūdeni šķidrā agregātstāvoklī. Ne tik populārs šķīdinātājs, ko var izmantot šajā ekstrakcijas veidā, ir etanols. Etanola kritiskais punkts ir t = 273 °C, P = 61 bar (6,14 MPa).

Apsverot plašās polaritātes izmaiņas iespējas, mainot šķīdinātāja temperatūru, zemkritiskā stāvokļa šķīdinātāja ekstrakcijai ir ievērojami lielāks potenciāls nekā virskritiskā stāvokļa šķīdinātāja ekstrakcijai ar CO<sub>2</sub> selektīvai savienojumu ekstrahēšanai. Zemkritiskā stāvokļa šķidrums ekstrakcija ir ātrāka, pārsvarā dod lielāku iznākumu un lielā mērā var samazināt lietotā šķīdinātāja tilpumu (Huie, 2002).

*Spiedienam* ir ierobežota ietekme uz šķīdinātāja īpašībām tik ilgi, kamēr tas paliek šķidrā stāvoklī. Palielinot spiedienu no 0,1 līdz 10 MPa, ūdens dielektriskā konstante ir tikai 0,37 (Vematsu, Franck, 1980).

Zemkritiskā stāvokļa ūdens ekstrakcija ir lietota, lai ekstrahētu bioloģiski aktīvus savienojumus no citrusu spiedpaliekām (Kim et al., 2009), oregano (Rodriguez-Meizoso et al., 2006) vai rozmarīna (Herrero et al., 2010), kā arī fenolu antioksidantu ekstrakcijai no rapšu spiedpaliekām (Hassas-Roudsari et al., 2009).

#### **1.4.3. Ekstraktu izmantošana eļļas stabilitātes uzlabošanai / *Application of extracts for improving of oil stability***

Kā jau minēts, antioksidantu darbību var ietekmēt dažādi faktori, un ar testiem noteiktā antioksidantu aktivitāte var atšķirties no to efektivitātes konkrētās pārtikas sistēmās. Tādēļ, lai pārbaudītu iegūto ekstraktu efektivitāti, stabilizējot lipīdus, eksperimentos kā vienu no visērtāk izmantojamiem un testējamiem ar lipīdiem bagātiem pārtikas modeļiem izmanto eļļu. Lai eksperimentu gaitā paātrinātu oksidēšanās procesus analizējamās eļļās, tās apzināti tiek pakļautas paaugstinātās temperatūras vai UV starojuma ietekmei. Viena no izplatītākajām metodēm ir eļļas izturēšana paātrinātās oksidēšanās procesa apstākļos, tas ir, +60 °C (Miguel et al., 2005).

Dažādas izcelsmes eļļām taukskābju sastāvs un saturs ir ļoti atšķirīgs. Latvijā viena no populārākajām eļļām, kura ir arī diezgan plaši pētīta, ir rapšu eļļa. Tās sastāvā ir nepiesātinātās taukskābes – oleīnskābe (61–62%), linolskābe (19–21%), linolēnskābe (9–11%), kā arī piesātinātās taukskābes (7%) – palmitīnskābe (4%), stearīnskābe (2%) (DeFilippis, Sperling, 2006).

Pēdējos gados ir novērota pieaugoša interese par dabīgas izcelsmes antioksidantiem (Brielman et al., 2006), kas darbojas tikpat efektīvi kā sintētiskie antioksidanti

(Michiels et al., 2012). Turklāt dabā ir sastopamas vielas, kas varētu bagātināt pārtikas produktus un radīt funkcionālu pārtiku, kas veicinātu daudzu slimību novēršanu (Crozier et al., 2006). Diezgan plaši ir izpētīta tādu augu kā oregano, rozmarīna un zaļās tējas (Pawar et al., 2012) ekstraktu efektivitāte lipīdu stabilizēšanai, bet arvien biežāk zinātnieki sāk pievērsties mazāk izpētītu augu, tajā skaitā aizmirstu ārstniecības augu, kā sparģeļu (Pawar et al., 2012), upeņu (Mieriņa, Bondarevska, 2011), krizantēmu (Pukalskas et al., 2010), prīmulu (Niklava et al., 2001) ekstraktu efektivitātes novērtēšanai. Arī Latvijā mārrutki un lupstāji pagājušajā gadsimtā bija diezgan populāri, bet mūsdienās tos gandrīz neizmanto, tādēļ ir svarīgi izpētīt mārrutku un lupstāju ekstraktu lipīdu oksidēšanās kavēšanas efektivitāti.

### **Problemātikas apskata kopsavilkums**

Mūsdienās patērētāji kļūst arvien zinošāki, un ir liela vēlme pārtikā lietot maksimāli dabīgus produktus bez pārtikas piedevām (E vielām), tādēļ tiek meklēti gan jauni, gan apzināti vietējie, katram reģionam raksturīgie, bet aizmirstie un plaši neizmantotie augi bioloģiski aktīvo savienojumu iegūšanai. Mārrutki un lupstāji ir tipiski Latvijas aromātiskie augi, kuri jau iepriekšējos gadsimtos ir tikuši lietoti gan kā garšaugi, gan kā ārstniecības augi. Mārrutki ir samērā populāri arī mūsdienās, bet lupstāju popularitāte ir ļoti mazinājusies.

Augi satur tādus bioloģiski aktīvos savienojumus kā fenolus, vitamīnus, kā arī gaistošos savienojumus, kuru sastāvu var ietekmēt dažādi lauksaimnieciska rakstura apstākļi (augu suga, šķirne, genotips, novākšanas laiks, klimatiskie apstākļi), kā arī apstrādes procesi (kaltēšana, saldēšana).

Daļai bioloģiski aktīvo savienojumu, kā fenolu savienojumi un vitamīni, piemīt antioksidantu īpašības, un tos iespējams izmantot kā alternatīvu sintētiskajām pārtikas piedevām. Fenolu savienojumi izrāda aizsardzības un stabilizējošu ietekmi uz lipīdiem, pārtikas krāsu un garšu.

Bioloģiski aktīvo savienojumu ar antioksidantu īpašībām izdalīšanai bieži tiek izmantotas tradicionālās ekstrakcijas metodes (konvencionālā, Soksleta ekstrakcijas metode), bet ir izstrādātas arī jaunas ekstrakcijas procedūras, kurām ir daudzas priekšrocības (samazināts ekstrakcijas ilgums, šķīdinātāja patēriņš, palielināts apstrādājamo paraugu apjoms un citas). Populārākās no šīm metodēm ir virskritiskā stāvokļa šķīdinātāja ekstrakcija, zemkritiskā stāvokļa šķīdinātāja ekstrakcija, paātrinātā ekstrakcija, ultraskaņas un mikroviļņu veicināta ekstrakcija.

Līdz ar to ir svarīgi izpētīt mārrutku un lupstāju ķīmisko sastāvu, dažādu apstrādes paņēmienu ietekmi uz mārrutkos un lupstājos esošo bioloģiski aktīvo savienojumu saturu. Tikpat nozīmīgi ir izvērtēt optimālos ekstrakcijas apstākļus ar dabīgajiem antioksidantiem bagātu ekstraktu iegūšanai no mārrutkiem un lupstājiem, kā arī atrast iespējas to izmantošanai pārtikas produktu lipīdu stabilizēšanai.

### ***Problems reviewer Summary***

*Consumers today are becoming increasingly knowledgeable, and there is a growing desire to choose natural products without food additives (E substances). Because of that, new plants for obtaining biologically active compounds are being sought and local plants that are characteristic to each region, but have been forgotten and fallen into disuse, are being studied. Horseradish and lovage are typical Latvian aromatic plants, which have*



*already been used in previous centuries both as herbs and medicinal plants. Horseradish is still somewhat popular today, but the popularity of lovage has greatly declined.*

*The plants contain such biologically active compounds as phenols, vitamins, as well as volatile compounds, the content of which may be affected by various agricultural conditions (plant species, variety, genotype, harvest time, climatic conditions) and treatment processes (drying, freezing).*

*Part of the biologically active compounds, such as phenolic compounds and vitamins, possess antioxidant properties and can be used as an alternative to synthetic food additives. Phenolic compounds show a protective and stabilizing effect on lipids, food color and taste.*

*Traditional extraction methods (conventional, Soxhlet extraction method) are frequently used for extraction of biologically active compounds with antioxidant properties, but new extraction procedures have also been developed and have many advantages (reduced extraction length, solvent consumption, increased amount of processed samples, and others). The most popular among these methods are supercritical solvent extraction, subcritical solvent extraction, accelerated extraction, ultrasound- and microwave-assisted extraction.*

*In recent years, there has been growing interest in plant-origin additives, and the effectiveness of plants such as oregano, rosemary and green tea extracts for lipid stabilization has been extensively researched, but more and more often scientists are turning to the assessment of effectiveness of less-researched plant extracts.*

*Consequently, it is important to research the chemical composition of horseradish and lovage, and the effect of various treatment methods on the content of the biologically active compounds contained in horseradish and lovage. It is equally important to assess the optimal extraction conditions for obtaining antioxidant-rich extracts from horseradish and lovage, as well as to find possibilities for their use in stabilization of food lipids.*

## 2. MATERIĀLI UN METODES / MATERIALS AND METHODS

### 2.1. Pētījuma laiks un vieta / *Time and place of the research*

Eksperimenti veikti no 2011. gada līdz 2015. gadam:

- LLU Pārtikas tehnoloģijas fakultātes Pārtikas tehnoloģijas katedras Pārtikas produktu analīžu laboratorijā (mitruma saturs) un Iepakojuma materiālu īpašību izpētes laboratorijā (gaistošo savienojumu saturs), Ķīmijas katedras Dabas vielu ķīmijas zinātniskajā laboratorijā (atsevišķo fenolu savienojumu noteikšana) un Organiskās ķīmijas laboratorijā (ekstraktu gatavošana pēc konvencionālās un Soksleta metodes, mikroviļņu veicinātas un ultraskaņas veicinātas ekstrakcijas, kā arī kopējo fenolu un kopējā flavonoīdu satura, antiradikālās aktivitātes un reducēšanas spējas noteikšana);
- Tulūzas Nacionālā Politehniskā institūta, Agro-industrijas ķīmijas laboratorijās (paātrinātā un zemkritiskā stāvokļa ekstrakcijas).

### 2.2. Materiālu raksturojums / *Description of the materials*

Mārrutku un lupstāju paraugi ievākti 2011., 2012. un 2013. gadā no jūnija līdz novembrim (laika apstākļi 2. pielikumā). Pētījumos analizēti svaigi, kaltēti un saldēti paraugi. Katrā pētījumā izmantotais augu materiāls parādīts pētījumu aprakstā, konkrētais novākšanas laiks – pie pētījumu posmu apraksta.

#### 2.2.1. Mārrutki / *Horseradish*

Eksperimentiem tika izmantoti divpadsmit mārrutku (*Armoracia rusticana* L.) genotipi, kuri audzēti AS „Pūres dārzkopības pētījumu centrs”. Detalizēta mārrutku genotipu izcelsme atspoguļota 2.1. tabulā.

2.1. tabula / *Table 2.1*

#### Mārrutku un lupstāju genotipu izcelsme / *Origin of horseradish and lovage genotypes*

Augu materiāls / <i>Plant material</i>	Izcelsmes vieta / <i>Place of origin</i>	Apzīmējumi / <i>Abbreviations</i>
Mārrutki / <i>Horseradish</i>	Valmieras novads, Latvija / <i>Valmiera region, Latvia</i>	G1
	Baltkrievija / <i>Belarus</i>	G2
	Jelgavas novads, Latvija / <i>Jelgava region, Latvia</i>	G3, G104, GJ
	Preiļu novads, Latvija / <i>Preili region, Latvia</i>	G12B
	Malnavas novads, Latvija / <i>Malnava region, Latvia</i>	G26B, G280, G281
	Kuldīgas novads, Latvija / <i>Kuldiga region, Latvia</i>	G105
	Kokneses novads, Latvija / <i>Koknese region, Latvia</i>	G106
	Mārupes novads, Latvija / <i>Marupe region, Latvia</i>	GM
Lupstāji / <i>Lovage</i>	Jelgavas novads, Latvija / <i>Jelgava region, Latvia</i>	L1, L3
	Bauskas novads, Latvija / <i>Bauska region, Latvia</i>	L2, L4

Pētījumā izmantotas mārrutku saknes un lapas. Saknes tika novāktas, nogrieztas lapas, maksimāli attīrītas no augsnes un pēc tam 1–2 nedēļas uzglabātas ledusskapī +4±1 °C temperatūrā ar gaisa relatīvo mitrumu 90–95%. Eksperimentiem tika izmantotas dažādas attīstības pakāpes mārrutku lapas, kuras pēc ievākšanas tika

ievietotas polietilēna (PE) maisiņos un tad glabātas ledusskapī  $+4\pm 1$  °C temperatūrā gaisā ar relatīvo mitrumu 90–95%.

### **2.2.2. Lupstāji / *Lovage***

Eksperimentiem tika izmantoti četri lupstāju (*Levisticum officinale* L.) genotipi, kuri audzēti un iegādāti dažādos Latvijas reģionos (detalizēta informācija atspoguļota 2.1 tabulā).

Pētījumā izmantotas lupstāju saknes, kāti un lapas. Saknes tika novāktas, nogrieztas lapas, maksimāli attīrītas no augsnes un pēc tam 1–2 nedēļas uzglabātas ledusskapī  $+4\pm 1$  °C temperatūrā ar gaisa relatīvo mitrumu 90–95%. Eksperimentiem tika izmantoti dažādas attīstības pakāpes lupstāju kāti un lapas ievietoti PE maisiņos, tad glabāti ledusskapī  $+4\pm 1$  °C temperatūrā gaisā ar relatīvo mitrumu 90–95%.

### **2.2.3. Rapšu eļļas raksturojums / *Characterization of oil***

Pētījumā par mārrotku lapu, lupstāju lapu un lupstāju kātu ekstraktu spēju stabilizēt eļļu uzglabāšanas laikā izmantota SIA „Iecavnieks” (Latvija) nerafinēta rapšu eļļa. Eļļa iepakota caurspīdīgās plastmasas (polietilēntereftalāta – PET) pudelēs (tilpums 5 L). Eļļas derīguma termiņš– 9 mēneši, un pētījumā izmantota eļļa 1 nedēļu pēc ražošanas, kura uzglabāta vietā, kas aizsargāta no tiešu saules staru iedarbības. Eļļas taukskābju sastāvs: oleīnskābe (62%), linolskābe (21%), linolēnskābe (11%), palmitīnskābe (5%). Pētījumos izmantota eļļa, kuras peroksīdu skaitlis bija 6–9 miliekvivalenti aktīvā skābekļa vienā eļļas kilogramā ( $\text{meq O}_2 \text{ kg}^{-1}$ ) un skābes skaitlis – robežās no 1,27 līdz 1,32 miligramiem kālija hidroksīda vienā eļļas gramā ( $\text{mg KOH g}^{-1}$ ). Latvijas Republikas MK noteikumi Nr.461 „Prasības pārtikas kvalitātes shēmām, to ieviešanas, darbības, uzraudzības un kontroles kārtība” nosaka, ka auksti spiestai nerafinētai rapšu eļļai peroksīdu skaitlis nedrīkst pārsniegt 15  $\text{meq O}_2 \text{ kg}^{-1}$ , skābes skaitlis – 4  $\text{mg KOH g}^{-1}$  (MKN Nr.461, 2014. gads).

### **2.3. Pētījuma struktūra / *Structure of the research***

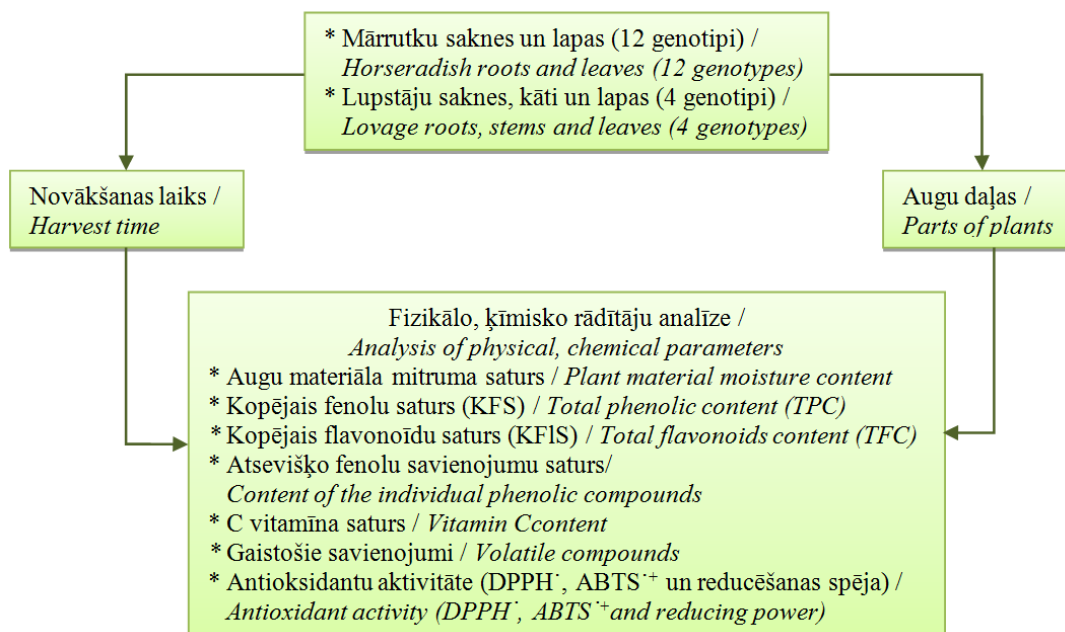
Pētījums veikts četros posmos un kopējā pētījuma struktūra parādīta 2.1. attēlā.



**2.1. att. Pētījuma struktūra /  
Fig. 2.1. Structure of the research**

**I posms. Mārrutku un lupstāju bioloģiski aktīvo savienojumu izvērtējums.**

Pirmajā posmā tika analizēta genotipa, novākšanas laika un auga daļas ietekme uz mārrutku un lupstāju sastāvā esošajiem antioksidantiem. Pētījuma 1. posma shēma ir parādīta 2.2. attēlā.



**2.2. att. Pētījuma pirmā posma struktūra /**  
**Fig. 2.2. Structure of the first stage of experiment**

Novākšanas laika ietekmes izvērtējumam eksperimentos tika ievākti un izmantoti šādi augu materiāli:

- mārrutku (genotipu G1, G2, G3, G12B, G26B, G104, G105, G106, G280, G281, GM un GJ) saknes – 2011. gadā (I – ražas ievākšana augustā, II – ražas ievākšana septembrī, III – ražas ievākšana novembrī),
- mārrutku genotipa GJ lapas – 2011. gadā (I – ražas ievākšana jūnijā, II – ražas ievākšana jūlijā, III – ražas ievākšana augustā, IV – septembrī),
- lupstāju genotipa L4 kāti un lapas – 2011. gadā (I – ražas ievākšana jūnijā, II – ražas ievākšana jūlijā, III – ražas ievākšana augustā).

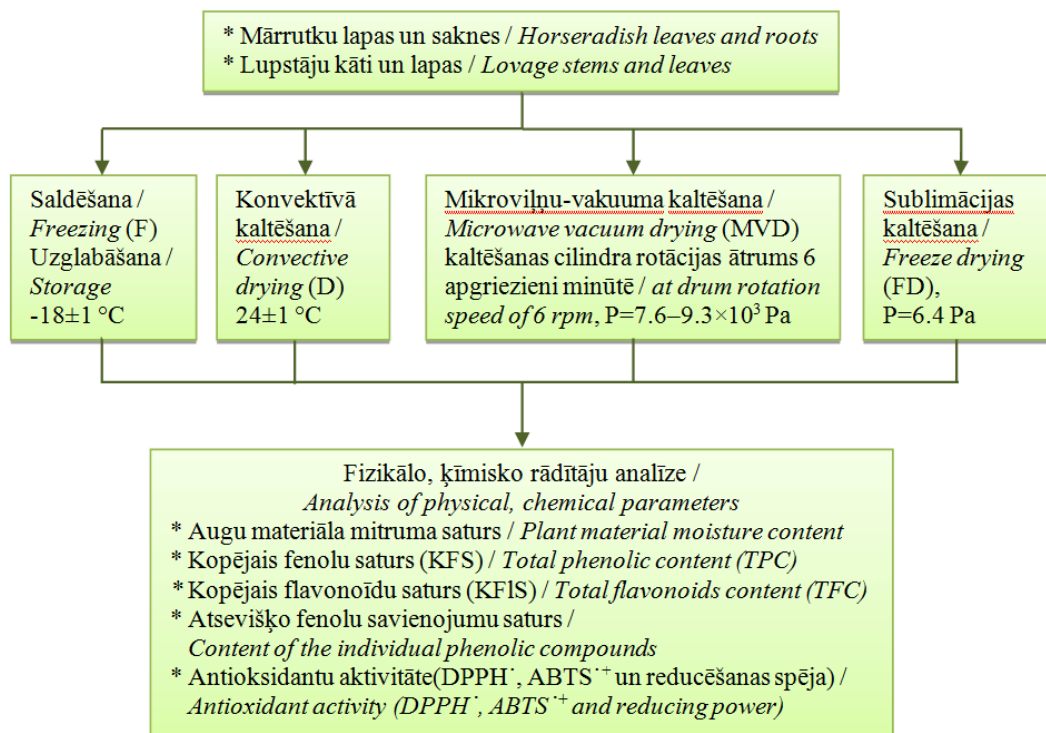
Ģenētiskā fona ietekmes izvērtējumam tika izmantotas mārrutku genotipu G1, G2, G3, G12B, G26B, G104, G105, G106, G280, G281, GM un GJ lapas (ievāktas 2011. gada jūnijā) un saknes (ievāktas 2011. gada augustā), kā arī lupstāju genotipu L1, L2 un L3 saknes (ievāktas 2013. gada septembrī), kāti (ievākti 2013. gada augustā) un lapas (ievāktas 2013. gada jūnijā). Šādi atšķirīgi novākšanas laiki izvēlēti, pamatojoties uz iepriekš veikto novākšanas laiku ietekmes izvērtējumu, kad katra auga daļā bija augstākie rādītāji.

Augu daļas ietekmes izvērtējumam tika izmantotas 2011. gada augustā ievāktas divpadsmit genotipu (G1, G2, G3, G12B, G26B, G104, G105, G106, G280, G281, GM un GJ) mārrutku saknes un lapas, kā arī 2013. gada augustā ievāktas lupstāju genotipu L1, L2 un L3 saknes, kāti un lapas.

Šajā posmā no augu materiāliem tika gatavoti ekstrakti, kuriem tālāk tika noteikti fizikāli ķīmiskie parametri. Vispirms augu materiāli tika sasmalcināti ar blenderi, tad ekstrahēti, izmantojot konvencionālo ekstrakciju ar 95% etanolu, ekstrakcijas parametri raksturoti III posma aprakstā.

**II posms. Apstrādes veida ietekme uz mārrutku un lupstāju bioloģiski aktīvajiem savienojumiem.**

Pētījumā tika analizēta saldēšanas un kaltēšanas ietekme uz mārrutku un lupstāju sastāvā esošo fenolu savienojumu saturu un AA (2.3. att.). Kā kontrole tika analizēti svaigie augu materiālu paraugi.



**2.3. att. Pētījuma otrā posma struktūra /**  
**Fig. 2.3. Structure of the second stage of experiment**

Saldēšanas un konvektīvās kaltēšanas ietekmes izvērtējumam izmantotas 2013. gada jūnijā novāktas mārrutku genotipa GJ lapas un lupstāju genotipa L1 lapas un kāti.

Mārrutku genotipa GJ saknes, kas izmantotas saldēšanas, mikroviļņu-vakuuma un sublimācijas kaltēšanas salīdzinājumam novāktas 2012. gada oktobrī.

Pētījumā izmantotās apstrādes metodes ir saldēšana, konvektīvā kaltēšana, kaltēšanas sublimācijas kaltē un kaltēšanas mikroviļņu-vakuuma kaltē.

**Saldēšana / Freezing (F).** Saldēšanas eksperimenti veikti ārsaldētājā *FT 34 MkII* (Armfield, Lielbritānija). Augu materiālu sagatavošana:

- mārrutku saknes nomazgā, nosusina, nomizo, sagriež 2–3 cm garos gabalos;
- mārrutku lapas, lupstāju lapas atdala no kātiem, nomazgā un nosusina.

Visus augu materiālus slēgtos PE maisiņos (pa 50 g) ievieto starp divām saldējošām plāksnēm, kuru temperatūra  $-40\pm 1$  °C, apmēram 30 min, kamēr produkta temperatūra sasniedz  $-18\pm 1$  °C. Sasaldētos augu paraugus līdz turpmākajām analīzēm uzglabā saldēšanas kamerā  $-18\pm 1$  °C temperatūrā.

**Konvektīvā kaltēšana / Convective drying (D).** Kaltēšanas eksperimenti veikti žāvskapī *Memmert* (Vācija). Augu materiālu sagatavošana:

- mārrutku lapas – nomazgā, nosusina un sagriež 5–7 cm gabalos;
- lupstāju kāti – atdala no lapām, nomazgā, nosusina, sagriež 5–7 cm garos posmos;
- lupstāju lapas – atdala no kātiem, nomazgā, nosusina.

Sagatavotos paraugus novieto uz plauktiem, un kameru noslēdz. Kaltēšanas process notiek  $+24\pm 1$  °C tumsā līdz parauga mitruma saturam  $8,0\pm 1,0\%$ . Pēc tam paraugus uzglabā vakuumā hermētiski slēgtos PE maisiņos istabas temperatūrā tumsā.

**Kaltēšana sublimācijas kaltē / Freeze-drying (FD).** Kaltēšanas eksperimenti veikti sublimācijas kaltē *FT 33* (Armfield, Lielbritānija). Vispirms veic augu materiālu

sagatavošanu un saldēšanu, kā aprakstīts iepriekš pie saldēšanas ātrsaldētājā *FT 34 MkII*. Sagatavotie sasaldētie paraugi izņemti no PE maisiņiem un novietoti uz kaltes plauktiem ( $5 \times 10^{-3}$  m biezā slānī), tad ielikti kaltēšanas tvertnē, kura pēc tam hermētiski noslēgta. Kaltēšanas process ilga 72 stundas  $-40 \pm 1,0$  °C temperatūrā un 6,4 Pa spiedienā. Augu materiāls tika izkaltēts līdz parauga mitruma saturam  $8,0 \pm 1,0\%$ . Pēc tam paraugi uzglabāti vakuumā hermētiski slēgtos PE maisiņos istabas temperatūrā tumsā.

**Kaltēšana mikroviļņu-vakuuma kaltē / *Drying in a microwave-vacuum drier (MVD)*.** Kaltēšanas eksperimenti veikti mikroviļņu-vakuuma kaltē *Musson-1 (OOO Ingredient, Krievija)*. Mārrutku saknes sagatavo kaltēšanai (nomazgā, nomizo, sagriež 2–3 cm garos gabalos, ~3 kg) un ievieto kaltēšanas cilindrā (garums – 540 mm, diametrs – 350 mm), kurš ievietots mikroviļņu-vakuuma kaltē. Mikroviļņu-vakuuma kalte aprīkota ar četriem magnetroniem, un katra magnetrona jauda ir 640 W. Kaltēšanas process notika vienā darba ciklā pēc ieprogrammētiem darbības parametriem:

- spiediens 7,5–9,3 kPa;
- cilindra rotācijas ātrums –  $6 \text{ min}^{-1}$ .

Saknes kaltē līdz parauga mitruma saturam  $8,0 \pm 1,0\%$ . Pēc tam paraugi uzglabāti vakuumā hermētiski slēgtos PE maisiņos istabas temperatūrā tumsā.

Šajā posmā augu materiāli pirms ekstrahēšanas tika smalcināti dzirnaviņās un ekstrahēti, izmantojot Soksleta ekstrakcijas metodi, kā šķīdinātāju lietojot 95% etanolu.

Pētījumā izmantotie apzīmējumi apkopoti 2.2. tabulā.

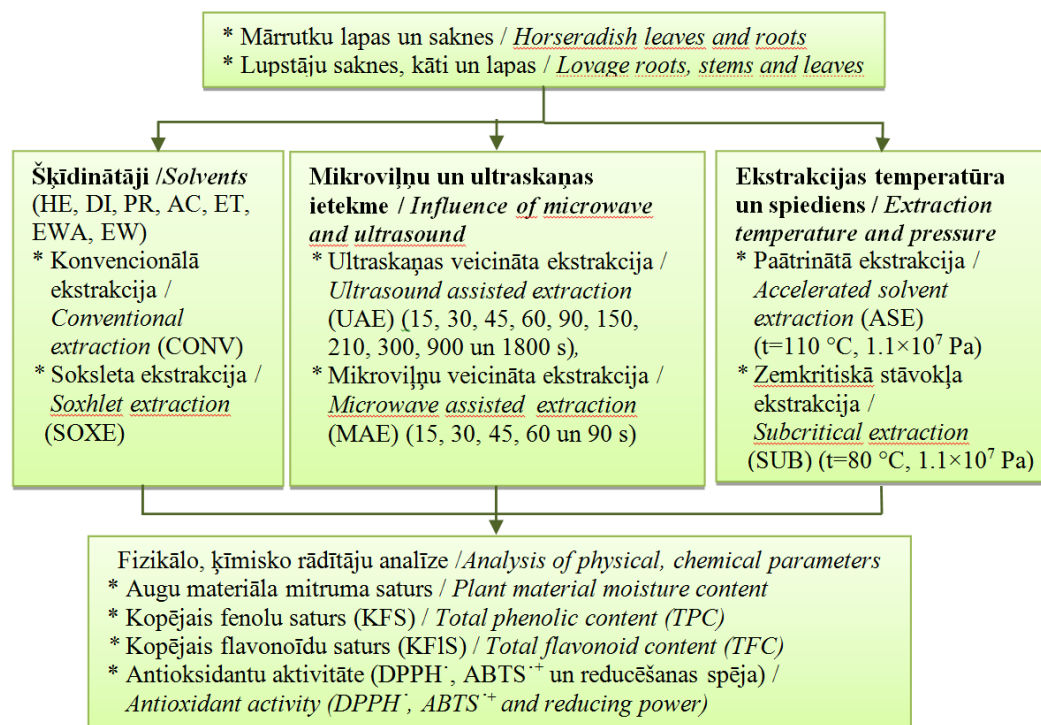
2.2. tabula / *Table 2.2*

**Dažādi apstrādātu mārrutku un lupstāju paraugu apzīmējumi / *Sample codes used in a study of determining the effects of treatment on horseradish and lovage***

Apzīmējumi / <i>Codes</i>	Augu materiāls / <i>Plant material</i>	Apstādes veids / <i>Type of treatment</i>
H_R_Fresh	mārrutku saknes / <i>horseradish roots</i>	svaigas / <i>fresh</i>
H_R_Frozen	mārrutku saknes / <i>horseradish roots</i>	saldētas / <i>frozen</i>
H_R_MV	mārrutku saknes / <i>horseradish roots</i>	kaltētas mikroviļņu-vakuuma kaltē / <i>dry in a microwave vacuum drier</i>
H_R_Subl	mārrutku saknes / <i>horseradish roots</i>	kaltētas sublimācijas kaltē / <i>freeze-drying</i>
H_L_Fresh	mārrutku lapas / <i>horseradish leaves</i>	svaigas / <i>fresh</i>
L_L_Fresh	lupstāju lapas / <i>lovage leaves</i>	svaigas / <i>fresh</i>
L_S_Fresh	lupstāju kāti / <i>lovage stems</i>	svaigi / <i>fresh</i>
H_L_Dried	mārrutku lapas / <i>horseradish leaves</i>	kaltētas konvektīvajā kaltē / <i>convective drying</i>
L_L_Dried	lupstāju lapas / <i>lovage leaves</i>	kaltētas konvektīvajā kaltē / <i>convective drying</i>
L_S_Dried	lupstāju kāti / <i>lovage stems</i>	kaltēti konvektīvajā kaltē / <i>convective drying</i>
H_L_Frozen	mārrutku lapas / <i>horseradish leaves</i>	saldētas / <i>frozen</i>
L_L_Frozen	lupstāju lapas / <i>lovage leaves</i>	saldētas / <i>frozen</i>
L_S_Frozen	lupstāju kāti / <i>lovage stems</i>	saldēti / <i>frozen</i>

**III posms. Ekstrakcijas parametru ietekmes izvērtējums.**

Pētījumā tika analizēts ekstraktu fenolu savienojumu saturs un AA (2.4. att.) izmaiņas dažādu ekstrakcijas parametru ietekmē. Visi ekstrakti tika gatavoti trijos atkārtojumos.



**2.4. att. Pētījuma trešā posma struktūra /**  
**Fig. 2.4. Structure of the third stage of experiment**

**Šķīdinātāja ietekmes izvērtējums.** Eksperimentiem tika izmantotas trīs genotipu mārrutku saknes (G12B, G105 un G106), kuras novāktas 2011. gada septembrī, bet mārrutku lapas (genotips GJ) – 2012. gada augustā, kā arī trīs lupstāju genotipu (L1, L2 un L3) saknes, kāti un lapas, kas tika novākti 2012. gada augustā. Svaigi augu materiāli tika ekstrahēti, izmantojot konvencionālo un Soksleta ekstrakcijas metodes. Šajā pētījumu stadijā izmantotie šķīdinātāji (2.3. tab.) sakārtoti, balstoties uz polaritātes indeksu, pieaugošā secībā.

2.3. tabula / *Table 2.3*

**Ekstrakcijās izmantotie šķīdinātāji / Solvents used for extraction**

Nr.p.k. / <i>No</i>	Apzīmējums / <i>Abbreviation</i>	Šķīdinātājs / <i>Solvent</i>	Polaritātes indekss / <i>Polarity index</i>
1.	HE	n-heksāns / <i>n-hexane</i>	0
2.	DI	dietilēteris / <i>diethylether</i>	2.8
3.	PR	2-propanols / <i>2-propanol</i>	4
4.	AC	acetons / <i>acetone</i>	5.1
5.	ET	etanols / <i>ethanol</i>	5.2
6.	EWA	etanols/ūdens/etiķskābe / <i>ethanol/water/acetic acid</i> (80/20/1 v/v/v)	5.2/9/6.2
7.	EW	etanols/ūdens / <i>ethanol/water</i> (80/20 v/v)	5.2/9

**Mikroviļņu un ultraskaņas ietekmes izvērtējums.** Tika izvērtēta ekstrakcijas ilguma ietekme uz fenolu savienojumu saturu un to AA mārrutku un lupstāju ekstraktos, izmantojot MAE un UAE, variējot ekstrakcijas ilgumu (2.4. att.). Eksperimentiem tika izmantoti 2012. gada augustā novākti svaigi augu materiāli: lupstāju genotipa L1



saknes, kāti un lapas; trīs genotipu mārrutku saknes (G12B, G106 un G281) un genotipa GJ mārrutku lapas. Ekstrakcijai kā šķīdinātājs izmantots ET.

**Ekstrakcijas temperatūras un spiediena ietekmes izvērtējums.** Izvērtēta temperatūras un spiediena ietekme uz fenolu savienojumu saturu un to AA mārrutku genotipa G106 saknes (novāktas 2012. gada septembrī) un lupstāju genotipa L1 lapu un kātu (novākti 2012. gada augustā) ekstraktos (2.4. tab.). Visi augu materiāli pirms ekstrakcijas tika kaltēti sublimācijas kaltē, pēc tam paraugi uzglabāti vakuumā hermētiski slēgtos PE maisiņos istabas temperatūrā tumsā. Tieši pirms ekstrakcijas kaltētie augu materiāli tika smalcināti dzirnavās 30 s. Ekstrakcijai kā šķīdinātājs izmantots ET.

2.4. tabula / Table 2.4

**Ekstrakcijas apstākļi / Extraction conditions**

<b>Ekstrakcijas metode / Extraction method</b>	<b>Temperatūra / Temperature, °C</b>	<b>Spiediens / Pressure, Pa</b>
CONV	22±1	1×10 <sup>5</sup>
SOXE	78±1	1×10 <sup>5</sup>
SUB	80±0.5	1.1×10 <sup>7</sup>
ASE	110±0.5	1.1×10 <sup>7</sup>

**Ekstrakcijas metodes:**

- 1. konvencionālā ekstrakcija (CONV).** Trīs gramu homogenizēta parauga ar 50 mL attiecīgā šķīdinātāja (2.3. tab.) ievietoti koniskajā kolbā un maisīti ar magnētisko maisītāju (magnēti 4,0×0,5 cm) ar ātrumu 700 min<sup>-1</sup> 1 h +22±1 °C temperatūrā. Pēc tam ekstrakti tika filtrēti (filtrpapīrs No. 89);
- 2. ekstrakcija pēc Soksleta metodes (SOXE).** Trīs gramu homogenizēta parauga filtrpapīra kārtīdā (filtrpapīrs No. 89) ievietoti klasiskajā Soksleta aparātā un ekstrahēti ar 170 mL attiecīgā šķīdinātāja (2.3. tab.) 2 h. Pēc tam ekstrakts tika atdzesēts līdz istabas temperatūrai;
- 3. ultraskaņas veicināta ekstrakcija (UAE).** Trīs gramu homogenizēta parauga ievietoti 100 mL koniskajā kolbā, pievienots 30 mL 95% etanola, un kolba tika pakļauta ultraskaņas iedarbībai dažādos laika intervālus (2.4. att.) ultraskaņas ūdens vannā. UAE tika veikta SONOREX DIGITEC DT 100 H (Bandelin, Vācija) ultraskaņas vannā (35 kHz). Pēc apstrādes ekstrakti tika filtrēti (filtrpapīrs No. 89);
- 4. mikroviļņu veicināta ekstrakcija (MAE).** Trīs gramu homogenizēta parauga ievietoti 100 mL koniskajā kolbā, pievienots 30 mL 95%, etanola pievienošana un kolba tika pakļauta mikroviļņu iedarbībai. Mikroviļņu ekstraktors darbojās pie 900 W ar emisijas frekvenci 2450 MHz atmosfēras spiediena apstākļos dažādos laika intervālus (2.4. att.). Pēc apstrādes ar mikroviļņiem ekstraktus atdzesēja līdz istabas temperatūrai (apmēram 10 min) un tad filtrēja (filtrpapīrs No. 89);
- 5. paātrinātā ekstrakcija (ASE) un zemkritiskā stāvokļa ekstrakcija (SUB).** Gan SUB, gan ASE, tika veikta, izmantojot paātrinātu šķīdinātāju ekstraktoru (ASE 350, Dionex, Sunnyvale, ASV) dažādos ekstrakcijas parametros (2.4. tab.). Vispirms tika precīzi nosvērti 0,5 g izkaltēta, sasmalcināta parauga, tas rūpīgi sajaukts ar smiltīm un ievietots ekstrakcijas iekārtā. Ekstrahēšanas procedūra notiek šādos posmos:
  - paraugs tiek iepildīts ekstraktorā;
  - sākotnējais uzsildīšanas laiks ir 7 min;
  - statiskā ekstrakcija ar visas sistēmas vārstu slēgšanu notiek 3 min ar 3 statistiskiem cikliem;
  - notiek dekompresija.

Starp ekstrahcijām tiek skalota visa sistēma, lai novērstu jebkādu iepriekšējā ekstrakta palieku nokļūšanu nākamajā ekstraktā. Gatavie ekstrakti tika savākti stikla pudelē (40–50 mL), un to masa noteikta ar ražotāja KERN & Sohn GmbH analītiskajiem svariem „KERN 572-32” (301±0,001g).

Pētījumā izmantotie apzīmējumi apkopoti 2.5. tabulā.

2.5. tabula / Table 2.5

**Paraugu apzīmējumi ekstrakcijas parametru ietekmes noteikšanai mārrutku un lupstāju ekstraktos / Sample codes used in a study of determining the effects of extraction parameters of horseradish and lovage extracts**

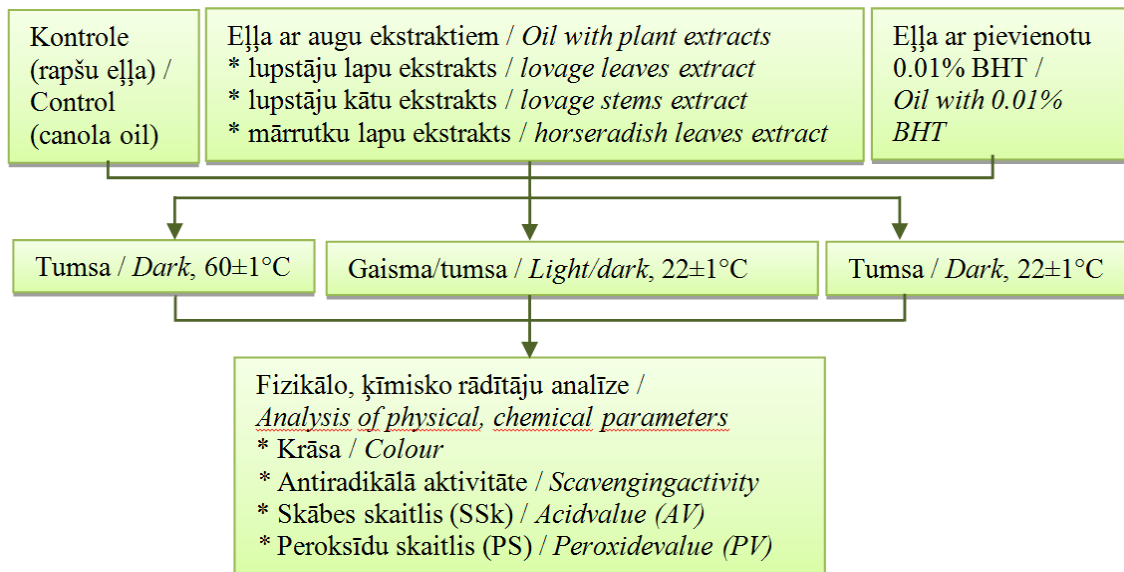
Apzīmējumi / Codes	Augu materiāls / Plant material	Ekstrakcijas ilgums / Time of extraction	Šķīdinātājs / Solvent	Ekstrakcijas metode / Extraction method
H_L_ET_SOXE	Mārrutku lapas / horseradish leaves	2 h	ET	SOXE
H_L_15_s_MAE	Mārrutku lapas / horseradish leaves	15 s	ET	MAE
L_L_SUB	Lupstāju lapas / lovage leaves	21 min	ET	SUB
L_L_EWA_SOXE	Lupstāju lapas / lovage leaves	2 h	EWA	SOXE
L_L_SOXE	Lupstāju lapas / lovage leaves	2 h	ET	SOXE
L_S_EW_SOXE	Lupstāju kāti / lovage stems	2 h	EW	SOXE
L_S_60_s_UAE	Lupstāju kāti / lovage stems	60 s	ET	UAE
L_L_15_s_UAE	Lupstāju lapas / lovage leaves	15 s	ET	UAE
L_L_15_s_MAE	Lupstāju lapas / lovage leaves	15 s	ET	MAE

**IV posms. Ekstraktu ietekmes uz eļļas stabilitāti izvērtējums.**

Izvērtējot iepriekš iegūtos rezultātus par ekstrakcijas apstākļu un metožu ietekmi uz fenolu savienojumu saturu un antioksidantu aktivitāti ekstraktos, tālākiem eksperimentiem tika izvēlēti lupstāju lapu un kātu un mārrutku lapu ekstrakti, izmantojot Soksleta ekstrakcijas metodi ar etanolu.

Kopējā pētījuma shēma ir parādīta 2.5. attēlā.

Nerafinētai rapšu eļļai pievienoja trīs dažādus ekstraktus: lupstāju lapu ekstraktu, lupstāju kātu ekstraktu un mārrutku lapu ekstraktu, kuri tika gatavoti ar Soksleta ekstrakcijas metodi ar etanolu, pēc tam vakuumā ietvaicēti līdz pilnīgai šķīdinātāja atdalīšanai.



**2.5. att. Pētījuma ceturrtā posma struktūra/  
Fig. 2.5. Structure of the fourth stage of experiment**

Ietvaicēto materiālu uzglabāja  $5 \pm 1$  °C temperatūrā tumša stikla pudelēs, kuras aiztaisītas ar liela blīvuma polietilēna (HDPE) korķi (diametrs 2,4 cm; materiāla biezums 2 mm). Pētījumā izmantotie apzīmējumi apkopoti 2.6. tabulā. Kontroles paraugs bez ekstraktiem apzīmēts ar C, paraugs ar BHT 0,01% – O\_BHT.

2.6. tabula / Table 2.6

**Paraugu apzīmējumi pievienoto augu ekstraktu efektivitātes noteikšanai nerafinētā rapšu eļļā / Sample codes used in a study of added herbal extract efficiency in crude rapeseed oil**

Pievienotā ekstrakta koncentrācija eļļā / Concentration of added extracts in oil, %	Pievienotais augu ekstrakts / The added plant extract		
	lupstāju lapu / lovage leaves	lupstāju kātu / lovage stems	mārrutku lapu / horseradish leaves
0.25%	O_LL_0.25%	O_LS_0.25%	O_HL_0.25%
0.5%	O_LL_0.5%	O_LS_0.5%	O_HL_0.5%
1.0%	O_LL_1%	O_LS_1%	O_HL_1%
1.5%	O_LL_1.5%	O_LS_1.5%	O_HL_1.5%
1.0%	O_LL	O_LS	O_HL

Nerafinēta rapšu eļļa ar pievienoto ekstraktu tika ievietota stikla koniskā kolbā, kura noslēgta ar aizbāzni un 30 min tumsā maisīta ar magnētisko maisītāju (magnēti  $4,0 \times 0,5$  cm) ar ātrumu  $700 \text{ min}^{-1}$  istabas temperatūrā ( $22 \pm 1$  °C). Tad sagatavotos eļļas paraugus uzglabāšanai sadalīja gaiša stikla pudelēs, kuru tilpums ir 50 mL, un aiztaisīja ar liela blīvuma polietilēna (HDPE) korķi (diametrs 2,4 cm; materiāla biezums 2 mm). Katrā pudelē iepilda 50 mL eļļas parauga. Katrā analīzes veikšanas dienā tika atvērtas trīs pudeles no katra parauga veida, kas ir 24 pudeles.

Eļļas tika uzglabātas 3 dažādos apstākļos:

- paaugstinātā temperatūrā ( $60 \pm 1$  °C) tumsā, žāvētā Memmert (Vācija);
- $22 \pm 1$  °C režīmā gaisma/tumsa;

- 22±1 °C tumsā.

Visos izturēšanas apstākļos salīdzināšanai tika izmantota kontrole (nerafinēta rapšu eļļa bez papildu pievienotiem antioksidantiem) un nerafinēta rapšu eļļa ar pievienotu BHT (Sigma-Aldrich, Šveice) 100 mg kg<sup>-1</sup> (0,01 %) (ES regula EKR 1129 no 2011. gada). Eļļas paraugi tika analizēti pēc noteikta laika intervāla:

- paaugstinātā temperatūrā (60±1 °C) tumsā – pēc 1, 3, 5, 8, 11, 15, 18 un 22 uzglabāšanas dienām;
- istabas temperatūrā (22±1 °C) – pēc 1, 4, 8, 12, 16, 20 un 24 uzglabāšanas nedēļām.

Vispirms tika analizēti eļļas paraugi ar pievienotiem lupstāju lapu, lupstāju kātu un mārrotku lapu ekstraktiem, kuri izturēti paaugstinātā temperatūrā (60±1 °C) tumsā. Ekstrakti tika pievienoti dažādās koncentrācijās:

- 0,25% jeb 2,5 g kg<sup>-1</sup>;
- 0,5% jeb 5 g kg<sup>-1</sup>;
- 1,0% jeb 10 g kg<sup>-1</sup>;
- 1,5% jeb 15 g kg<sup>-1</sup>.

Pēc iegūtajiem rezultātiem tālākiem pētījumiem no katra ekstrakta tika izraudzīts pievienot vienu koncentrāciju, kas nodrošināja labāku eļļas stabilitāti uzglabāšanas laikā. Istabas temperatūrā (22±1 °C) gan režīmā gaisma/tumsa, gan tumsā tika analizēti eļļas paraugi ar pievienotu lupstāju lapu, lupstāju kātu un mārrotku lapu ekstraktu 1,0% jeb 10 g kg<sup>-1</sup>.

#### 2.4. Pētījumā izmantoto analīžu metožu raksturojums / *Description of analysis methods used in the research*

Mārrotku un lupstāju paraugu analīzēm izmantotās metodes apkopotas 2.7. tabulā. Visas analīzes veiktas trijos atkārtojumos.

2.7. tabula / Table 2.7

#### Mārrotku, lupstāju un eļļas paraugu analīzēm izmantotie standarti un metodes / *Standards and methods used in analyses of horseradish, lovage and oil*

Nr.p.k. / No	Rādītāji / Indices	Standarti un metodes / Standard, method
<i>Augiem / For plants</i>		
1.	Mitruma saturs / <i>Moisture content</i>	LVS 272:2000; EBC 4.2.
2.	C vitamīns / <i>Vitamin C</i>	Jodometriskā metode, T-138-15-01:2002
3.	Gaistošie savienojumi / <i>Volatile compounds</i>	Gāzes hromatogrāfijas metode, GH / <i>Gas chromatography method, GC</i>
<i>Ekstraktiem / For extracts</i>		
4.	Kopējais fenolu saturs / <i>Total phenol content</i>	Singleton et al., 1999
5.	Kopējais flavonoīdu saturs / <i>Total flavonoid content</i>	Kim et al., 2003
6.	Atsevišķie fenoli / <i>Individual phenols</i>	Šķidrums hromatogrāfijas metode, AEŠH / <i>Liquid chromatography method, HPLC,</i> Özkan, Gokturk Baydar, 2006
7.	Antiradikālā aktivitāte / <i>Scavenging activity:</i> • DPPH <sup>•</sup> • ABTS <sup>•+</sup>	Yu et al., 2003 Re et al., 1999
8.	Reducēšanas spēja / <i>Reducing power</i>	Athukorala et al., 2006
<i>Eļļas paraugiem / Oil samples</i>		
9.	Peroksīdu skaitlis / <i>Peroxide value</i>	LVS EN ISO 3960: 2010

Nr.p.k. / No	Rādītāji / Indices	Standarti un metodes / Standard, method
10.	Skābes skaitlis / Acid value	LVS EN ISO 660:2009
11.	Eļļas antiradikālā aktivitāte / Scavenging activity of oil	Ha et al., 2012
12.	Krāsa / Colour	CIE L*a*b*

**C vitamīns.** C vitamīns tika noteikts jodometriski, nosakot parauga kopējo reducēšanas spēju. Nosver 25 g sasmalcināta analizējamā materiāla, ievieto 100 mL mērkolbā un pielej 6% skābeņskābes šķīduma līdz atzīmei, tad filtrē (filtrpapīrs No. 89).

10 mL filtrāta pārnes 100 mL koniskā kolbā, pievieno 2 mL 1% cietes šķīduma un rūpīgi saskalo. Titrē ar 0,01 M J<sub>2</sub> šķīdumu līdz krāsas maiņai, kas neizzūd 30 s laikā.

Askorbīnskābes daudzumu mg 100 g<sup>-1</sup> produkta aprēķina pēc 2.1. formulas.

$$x = \frac{v_{par.} \times 5000}{v_{stand.} \times m}, \quad (2.1.)$$

kur:

$v_{par.}$  – parauga titrēšanai izlietotais joda šķīduma tilpums, mL;

$v_{stand.}$  – askorbīnskābes standartšķīduma (40 mg 100 mL<sup>-1</sup>) titrēšanai izlietotais joda šķīduma tilpums, mL;

$m$  – parauga iesvars, g.

**Gaistošo savienojumu noteikšana.** Gaistošās vielas mērrutkos un lupstajos noteiktas ar gāzu hromatogrāfu, izmantojot cietās fāzes mikroekstrakciju. Kopumā 5 g parauga tika iesvērti 20 mL stikla pudelē un aizvākti ar vāciņiem. Pētījumā izmantota divinilbenzēna / karboksēna / polidimetilsiloksāna (*Divinylbenzene / Carboxen / Polydimethylsiloxane – DVB/Car/PDMS*) šķiedra (Supelco Inc., Bellefonte, PA, USA). Ekstrakcijas parametri: ekstrakcijas temperatūra +35±2 °C, inkubēšanas laiks 10 minūtes, ekstrakcijas ilgums 10 min. Injekcijas apstākļi gāzu hromatogrāfā: desorbcijas ilgums 15 minūtes, temperatūra +250 °C. Cietās fāzes mikroekstrakcijas ekstraktu analīzei tika izmantotas PerkinElmerClarus 500 GC / MS, aprīkots ar Elite-Wax ETR kolonnu, kuras garums ir 60 m, iekšējais diametrs – 0,25 mm, iekšējā pārklājuma biezums – 0,25 μm.

Gāzu hromatogrāfa darbības apstākļi – inžektora temperatūra +250 °C, krāsns sākuma temperatūra +40 °C. Šajos apstākļos paņemtais paraugs tiek izturēts 10 min, tālāk temperatūra pakāpeniski paaugstinās no +40 °C līdz +60 °C ar ātrumu 2 °C min<sup>-1</sup> un no +60 °C līdz +250 °C ar ātrumu 20 °C min<sup>-1</sup>, bet +250 °C izturot 5 min. Nesējgāze (hēlijs, He) 1 ml min<sup>-1</sup> un plūsmas sadalīšanas attiecība 2:1, jonizācija – EI + veids, skenēšanas parametri: m/z 40–400.

Gaistošie savienojumi tika identificēti, salīdzinot to masu spektru ar masu spektrubibliotēku (Nist98). Papildus tika aprēķināti to lineārie izdalīšanās indeksi un salīdzināti ar literatūras datiem. Savienojumi tabulās tiek parādīti izdalīšanās laika secībā. Kā kvantitatīvs mērs ir dots katra savienojuma īpatsvars kopējā gāzu hromatogrammas smaiļu laukumumu summā.

**Kopējā fenolu satura noteikšanas gaita.** Kopējais fenolu saturs mērrutku un lupstāju ekstraktos noteikts izmantojot *Folin-Ciocalteu* fenolu reaģentu pēc šādas metodikas (Singleton et al., 1999): analizējamam ekstraktam (0,5 mL) pievieno *Folin-Ciocalteu* reaģentu (2,5 mL), kurš desmitkārt atšķaidīts ar destilētu ūdeni. Pēc 5 min pievieno 7,5% Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (2 mL), samaisa un iztur 30 min. Absorbciju noteica

pie  $\lambda=765$  nm, izmantojot spektrofotometru „JENWAY 6300” („Baroworld Scientific” Ltd., Lielbritānija).

Kopējā fenolu satura kvantitatīvai izteikšanai izmantots galluskābes ekvivalents. Izveidota galluskābes kalibrācijas līkne, un, izmantojot nolasītās absorbcijas, kopējais fenolu saturs analizējamos paraugos tika izteikts kā miligrami galluskābes ekvivalenta 100 gramos parauga sausnas (GAE mg 100 g<sup>-1</sup> sausnas).

**Kopējā flavonoīdu satura noteikšanas gaita.** Kopējais flavonoīdu saturs mērrutku un lupstāju ekstraktos tika noteikts pēc šādas metodikas (Kim et al., 2003): analizējamam ekstraktam (0,5 mL) pievieno destilētu ūdeni (2mL) un sajauc ar 5% NaNO<sub>2</sub> (0,15 mL). Pēc 5 min pievieno 10% AlCl<sub>3</sub> (0,15 mL) (izmantots bez ūdens AlCl<sub>3</sub>), vēl pēc 5 min pievieno 1M NaOH (1 mL), samaisa un iztur 15 min. Absorbciju noteica pie  $\lambda=415$  nm, izmantojot spektrofotometru „JENWAY 6300” („BaroworldScientific” Ltd., Lielbritānija).

Kopējā flavonoīdu satura kvantitatīvai izteikšanai tika izmantots katehīna ekvivalents. Izveidota katehīna kalibrācijas līkne, un, izmantojot nolasītās absorbcijas, kopējais flavonoīdu saturs analizējamos paraugos tika izteikts kā miligrami katehīna ekvivalenta 100 gramos parauga sausnas masas (CE mg 100 g<sup>-1</sup> sausnas).

**Kopējās flavonoīdu un kopējās fenolu proporcijas noteikšana (KFIS:KFS / TFC:TPC).** Proporcija tika izteikta, dalot kopējo flavonoīdu saturu ar kopējo fenolu saturu. Kopējais fenolu saturs tika izteikts kā miligrami katehīna ekvivalenta 100 gramos parauga sausnas (CE mg 100 g<sup>-1</sup> sausnas). Šim nolūkam tika izveidota katehīna kalibrācijas līkne.

**Atsevišķo fenolu satura noteikšana.** Atsevišķie fenoli tika noteikti, izmantojot augstefektīvu šķidrums hromatogrāfiju. Analīzes tika veiktas ar „Shimadzu LC-20 Prominace” hromatogrāfu. Augstefektīvu šķidrums hromatogrāfa režīmi analizēm attēloti 3. pielikumā.

Pētījumā analizēts 12 fenolu savienojumu saturs mērrutku un lupstāju ekstraktos. Lai varētu identificēt un kvantificēt fenolu savienojumus, izmantotas standartvielas (4. pielikums).

Paraugu injekcija hromatogrāfā tika veikta izmantojot automātisko paraugu ievadīšanas sistēmu SIL-20AC. Iegūtie rezultāti paraugiem pārrēķināti uz sausu.

Fenoli tika identificēti, pamatojoties uz to izdalīšanās kārtību un standartvielu izdalīšanās laiku (Özkan, Gokturk Baydar, 2006).

**Antiradikālās aktivitātes noteikšana.** Antiradikālā aktivitāte mērrutku un lupstāju ekstraktos tika noteikta pēc divām metodikām, kas balstītas uz literatūras datiem.

Izmantojot 2,2-difenil-1-pikrilhidrazil- (**DPPH'**) reaģentu (Yu, et al., 2003), analizējamam ekstraktam (0,5 mL) pievieno svaigi pagatavotu DPPH' etanola šķīdumu (0,004 g DPPH' uz 100 mL etanola; 3,5 mL), samaisa un iztur tumsā 30 min. Absorbciju nolasa spektrofotometrā „JENWAY 6300” („BaroworldScientific” Ltd., UK) pie  $\lambda=517$  nm.

Antiradikālā aktivitāte tika mērīta arī ar 2,2-azino-bis (3-etilbenzotiazolin-6-sulfonskābes) (**ABTS'**) radikāļa katjona noteikšanas metodi (Re et al., 1999). Vispirms tika pagatavots fosfāta buferšķīdums no NaCl (8,18 g L<sup>-1</sup>), KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> (0,27 g L<sup>-1</sup>), Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> (1,42 g L<sup>-1</sup>) un KCl (0,15 g L<sup>-1</sup>), to šķīdinot destilētā ūdenī. Ja iegūtā fosfāta buferšķīduma pH mazāks par 7,4, tad tas tika koriģēts ar NaOH.

Pagatavo 2 mM ABTS pamatšķīdumu, to izšķīdinot iepriekš pagatavotajā fosfāta buferšķīdumā. 15–16 stundas pirms lietošanas 50 mL ABTS katjonradikāļu katjonu pamatšķīduma tika sajaukts ar 0,2 mL 70 mM K<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>8</sub> tālākai ABTS'+ veidošanai. Iegūto maisījumu atstāja tumsā istabas temperatūrā, kur tas ir stabils 2 dienas. Analīžu

veikšanai ABTS<sup>•+</sup> šķīdums tika atšķaidīts ar fosfāta buferšķīdumu, līdz iegūta absorbcija 0,800±0,030 pie 734 nm.

Turpmākai analīzei tiek sajaukts 0,05 mL ekstrakta ar 5 mL ABTS<sup>•+</sup> šķīduma. Reaģējošais maisījums izturēts 10 min istabas temperatūrā, tad nolasīta absorbcija pie  $\lambda = 734$  nm.

Zemāka reaģējošā maisījuma absorbcija uzrāda augstāku brīvā radikāļa saistīšanas aktivitāti (Zhao et al., 2008). Antiradikālās aktivitātes kvantitatīvai izteikšanai tika izmantots Troloksa ekvivalents. Izveidota Troloksa kalibrācijas līkne, un, izmantojot nolasītās absorbcijas, aktivitāte analizējamajos paraugos tika izteikta kā milimoli Troloksa (6-hidroksi-2,5,7,8-tetrametilhroman-2-karbonskābes) ekvivalenta 100 gramos parauga sausas (TE mM 100 g<sup>-1</sup>sausas) (Zhao et al., 2008).

**Reducēšanas spējas noteikšana.** Reducēšanas spēja mērrutku un lupstāju ekstraktos tika noteikta pēc šādas metodikas (Athukorala et al., 2006): analizējamam ekstraktam (1 mL) pievieno 2,5 mL 200 mM fosfātu buferšķīduma (pH 6,6) un 2,5 mL 30 mM K<sub>3</sub>[Fe(CN)<sub>6</sub>]. Maisījumu 20 min iztur 50 °C, tad pievieno 2,5 mL 600 mM trihloretikskābes. Reaģējošo maisījumu 10 min apstrādā centrifūgā pie 3000 m<sup>-1</sup>. 2,5 mL šķīduma augšējā slāņa sajauc ar 2,5 mL destilēta ūdens, kam pievieno 6 mM FeCl<sub>3</sub> (0,5 mL). Absorbciju nolasa spektrofotometrā „JENWAY 6300” („BaroworldScientifid” Ltd., Lielbritānija) pie  $\lambda = 700$  nm.

Netiešo antioksidantu aktivitāte analizējamajos paraugos tika izteikta kā miligrami askorbīnskābes ekvivalenta 100 gramos parauga sausas (AAE mg 100 g<sup>-1</sup>sausas).

**Antiradikālā aktivitāte rapšu eļļai.** Antiradikālā aktivitāte rapšu eļļai tika noteikta, izmantojot DPPH<sup>•</sup> reaģentu (Ha et al., 2012) reaģentu. Eļļas paraugu (0,15 mL) izšķīdina 3,75 mL izooktāna. Tad 1 mL izšķīdinātā eļļas parauga sajauc ar 3 mL svaigi pagatavota 0,1 mM DPPH<sup>•</sup> šķīdumu izooktānā. Pēc 30 min izturēšanas tumšā absorbciju nolasa spektrofotometrā „JENWAY 6300” („BaroworldScientifid” Ltd., Lielbritānija) pie  $\lambda = 509$  nm. Lai noteiktu eļļas paraugu AA, tika aprēķināts procentuāls lielums (2.2. formula).

$$(\%) = \frac{A_{kontrolē} - A_{paraugs}}{A_{kontrolē}} \times 100, \quad (2.2.)$$

kur:

$A_{kontrolē}$  – absorbcija kontroles paraugam (izooktāns ar DPPH<sup>•</sup>),

$A_{paraugs}$  – analizējamā parauga absorbcija.

**Krāsas noteikšana.** Rapšu eļļas paraugu krāsas intensitāte tika mērīta ar iekārtu *ColorTec-PCM* (ASV). Krāsu mērīšanas instrumenti analizē krāsu, filtrējot no objekta atstarotās gaismas dažādu gaismas viļņu garumu. Iekārta uztver atstaroto gaismu ar noteiktu viļņu garumu un pārvērš to skaitliskā vērtībā. Darbā lietots CIE L\*a\*b\* modelis. Apskatot krāsu CIE L\*a\*b\* vidē, lielums L\* apzīmē krāsas intensitāti (L<sub>0</sub> – tumšs, L<sub>100</sub> – gaišs), a\* – sarkanās un zaļās krāsas daudzumu (-a – +a), b\* – dzeltenās un zilās krāsas daudzumu (-b – +b) (Rodrigues et al., 2003). Eļļas paraugu kopējo krāsu diferenci, salīdzinot ar kontroles paraugu, aprēķina pēc 2.3. formulas.

$$\Delta E_{ab}^* = \sqrt{(L_2^* - L_1^*)^2 + (a_2^* - a_1^*)^2 + (b_2^* - b_1^*)^2}, \quad (2.3.)$$

kur:

- $L_1^*$  – krāsu intensitāte kontroles paraugam,
- $L_2^*$  – krāsu intensitāte eļļas paraugam,
- $a_1^*$  – sarkanās krāsas intensitāte kontroles paraugam,
- $a_2^*$  – sarkanās krāsas intensitāte eļļas paraugam,
- $b_1^*$  – dzeltenās un zilās krāsas intensitāte kontroles paraugam,
- $b_2^*$  – dzeltenās un zilās krāsas intensitāte eļļas paraugam.

## 2.5. Datu matemātiskā apstrāde / *Mathematical processing of data*

Datu matemātiskā apstrāde veikta ar matemātiskās statistikas metodēm. Aprēķini veikti ar MS Excel programmu, SPSS 17.0 statistikas programmu. Visiem iegūtajiem rezultātiem aprēķināti šādi rādītāji: vidējais aritmētiskais, standartnovirze.

Izvirzītās hipotēzes pārbaudītas ar p-vērtības metodi, un faktori novērtēti kā būtiski, ja p-vērtība  $< \alpha_{0,05}$ . Rezultātu interpretācijai pieņemts, ka  $\alpha=0,05$  jeb 95% ticamības, ja nav norādīts citādi. Datu apstrādē vispirms ar divfaktoru dispersijas analīzi (ANOVA) tiek izvērtēta divu dažādu faktoru mijiedarbības ietekme, un datu savstarpējo būtiskumu nosaka ar Tjūkija testu.

Izvērtējot dažādu pazīmju savstarpējo kopsakarību, izmantota korelācijas un regresijas analīze. Ja korelācijas koeficienta vērtība ir  $0,5 \leq |r| \leq 0,8$ , starp pētāmajām pazīmēm ir vidēji cieša lineārā sakarība. Ja  $|r| > 0,8$ , tad starp pētāmajām pazīmēm ir cieša lineārā sakarība (Arhipova, Bāliņa, 2003).

Darbā izmantota hierarhijas klasteru metode, ar ko var klasificēt datu kopu apakšgrupās jeb klasteros. Katrā klasterī tiek apvienoti savstarpēji visciešāk saistītie objekti. Attālumi starp paraugiem tika aprēķināti, izmantojot kvadrātveida Eiklīda attālumu. Datu sagatavošanas posmā veica mainīgo lielumu vērtības pārveidošanu (vidējo nulles un standarta novirze 1) par tā sauktajiem Z rādītājiem. Metode izmantota dažādu genotipu mārrutku sakņu klasificēšanai pēc gaistošo savienojumu satura, svaigu un tehnoloģiski apstrādātu mārrutku sakņu un lapu un lupstāju sakņu, kātu un lapu klasificēšanai pēc kopējā fenolu savienojumu satura un AA, mārrutku un lupstāju dažādos ekstrakcijas apstākļos iegūtu ekstraktu klasificēšanai pēc fenolu savienojumu satura un AA.



### 3. REZULTĀTI UN DISKUSIJA / RESULTS AND DISCUSSION

#### 3.1. Nozīmīgāko bioloģiski aktīvo savienojumu un to antioksidatīvās aktivitātes izvērtējums mārrutkos un lupstājos / *Assessment of horseradish and lovage main bioactive compounds and their antioxidative activity*

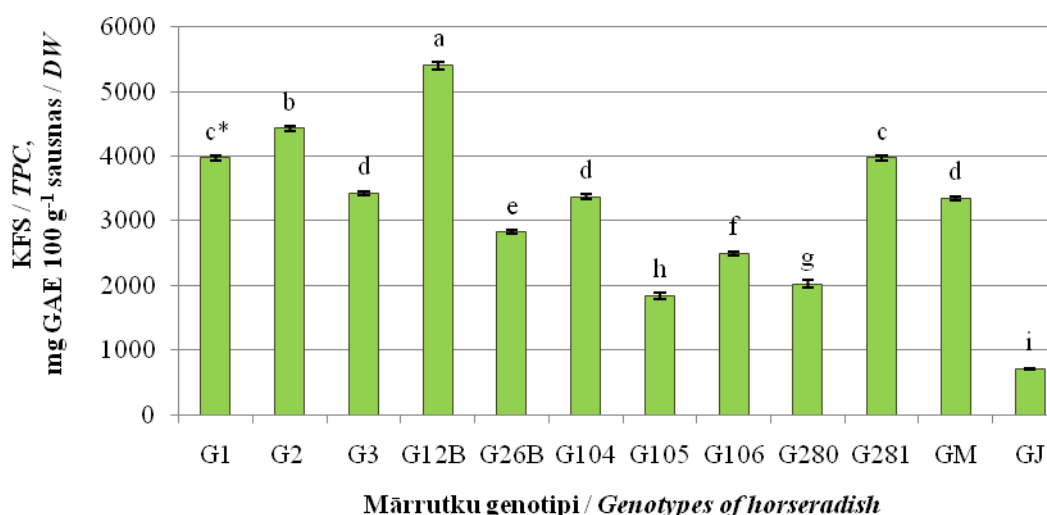
Mārrutku un lupstāju ķīmiskais sastāvs būtiski atšķiras dažādās auga daļās, un to ietekmē genotips, kā arī novākšanas laiks. Šajā pētījumā veikts galveno bioloģiski aktīvo savienojumu izvērtējums svaigos mārrutkos un lupstājos.

##### 3.1.1. Nozīmīgāko bioloģiski aktīvo savienojumu un to antioksidatīvās aktivitātes izvērtējums mārrutkos / *Assessment of horseradish main bioactive compounds and their antioxidative activity*

**Fenolu savienojumi.** Izvērtējot kopējo fenolu saturu (KFS) svaigos mārrutkos, konstatēts, ka pastāv būtiskas KFS atšķirības ( $p = 0,0001$ ,  $\alpha = 0,0500$ ) starp analizētajiem augu paraugiem atšķirīgos novākšanas laikos, augu daļās un genotipos.

Vairāki autori ir konstatējuši, ka tieši krustziežu dzimtas augu ķīmiskais sastāvs ir atkarīgs no auga ražas novākšanas laika (Koh et al., 2009), attīstības posma (Björkman et al., 2011) un augšanas apstākļiem (Kusznierewicz et al., 2008), un pētījumi par mārrutkiem šo tendenci apstiprināja.

Lai salīdzinātu KFS dažādu genotipu mārrutku lapās, tika analizētas divpadsmit mārrutku genotipu lapas. Lielākais KFS tika noteikts mārrutku genotipa G12B lapās ( $5406,2 \pm 28,0$  mg GAE  $100$  g<sup>-1</sup> sausas), bet mazākais genotipa GJ lapās ( $710,89 \pm 14,45$  mg GAE  $100$  g<sup>-1</sup> sausas) (3.1. att.).



3.1. att. Kopējais fenolu saturs dažāda genotipa mārrutku lapās /

**Fig. 3.1. Total phenolic content of horseradish leaves dependent on the genotype**

\* Vērtības, kas atzīmētas ar vienu un to pašu burtu, nav būtiski atšķirīgas savā starpā, ja  $p < 0,05$  /  
Mean values marked with the same letter do not differ significantly at  $p < 0.05$ .

Līdzīgi kā *W. somnifera* lapām augstākais KFS tika konstatēts tūlīt pēc ziedēšanas (Fernando et al., 2013), arī aplūkojot mārrutku genotipa GJ lapas dažādos novākšanas

laikos, lielākais KFS tika konstatēts jūnijā (3.1. tab.), bet jau jūlijā tas bija 6,98 reizes mazāks. To, iespējams, ietekmēja paaugstinātā UV starojuma intensitāte līdz vasaras saulgriežiem, arī mārrutku ziedēšanas laiks ir no maija līdz jūnijam (Raghavan, 2000). Laika apstākļi nevarēja būtiski ietekmēt šo parametru, jo vidējā gaisa temperatūra jūnijā, jūlijā un augustā bija robežās no 18,02 līdz 19,91 °C (2. pielikumā). Sākot no jūlija, ar katru nākamo novākšanas laiku vērojams KFS pieaugums, līdz septembrī tas bija vairs tikai 1,83 reizes mazāks nekā jūnijā. Tas, iespējams saistīts ar vidējās mēneša temperatūras būtisku pazemināšanos septembrī (14,43 °C).

3.1. tabula / Table 3.1

**KFS un KFIS mārrutku genotipa GJ lapās dažādos novākšanas laikos /  
TPC and TFC of horseradish leavess of genotype GJ by different harvest times**

Novākšanas laiks / <i>Harvest times</i>	KFS / TPC, mg GAE 100 g <sup>-1</sup> sausnas / DW	KFIS / TFC, mg CE 100 g <sup>-1</sup> sausnas / DW
2011. gada jūnijs / <i>In June 2011</i>	2368.48±22.08 <sup>a*</sup>	5599.83±23.05 <sup>a</sup>
2011. gada jūlijs / <i>In July 2011</i>	339.14±6.69 <sup>d</sup>	1036.28±13.74 <sup>d</sup>
2011. gada augusts / <i>In August 2011</i>	710.89±10.94 <sup>c</sup>	2485.80±10.94 <sup>c</sup>
2011. gada septembris / <i>In September 2011</i>	1296.58±15.57 <sup>b</sup>	3362.57±15.57 <sup>b</sup>

\*Dažādie burti vienā kolonnā apzīmē būtiski nozīmīgas atšķirības starp vērtībām (Tjūkija tests, p<0,05) / *The different letters in the same column represents significant differences between values (Tukey's test, p<0.05).*

Fenolu savienojumi nav vienmērīgi izplatīti visās augu daļās (Naczka, Shahidi, 2006), līdz ar to arī atšķiras to saturs dažādās viena auga daļās (Marrelli et al., 2012). Arī mārrutku lapās un saknēs bija vērojama līdzīga tendence, un KFS mārrutku saknēs svārstījās (3.2. tab.), kas ir vidēji 7–10 reizes mazāk nekā lapās. Eksperimentu rezultātos vērojams, ka starp mārrutku lapām un saknēm nebija izteiktas tendences, ka genotipam ar lielāko kopējo fenolu saturu lapās, arī saknēs tas būtu lielākais. Neraugoties uz to, ka mārrutku saknes var vākt no vasaras vidus līdz pat salnām, vislabākais laiks ražas novākšanai tomēr ir septembris (Raghavan, 2000), ko daļēji apstiprina arī šis pētījums. Salīdzinot novākšanas laiku, mārrutku sakņu KFS svārstījās, un septembrī arī sešu pētīto mārrutku genotipu saknēs konstatēts lielākais KFS. Visas šīs dažādās svārstības un atšķirības varēja ietekmēt audzēšanas paņēmieni, šķirne, suga, genotips, augšanas un klimata apstākļi, kā arī nogatavošanās pakāpe (Naczka, Shahidi, 2006).

Katra mārrutku genotipa saknei lielākais KFS bija citā novākšanas laikā. Par līdzīgām iezīmēm ir pārliecinājušies arī citi pētnieki, analizējot gan krustziežu dzimtas augus (Björkman et al., 2011), gan arī zemenes, saldus kartupeļus, tomātus un kukurūzu (Capanoglu, 2010).

**Flavonoīdi** ir ievērojama augu metabolītu grupa, pie kam neviena cita sekundāro produktu klase nepilda tik daudz un tik dažādas augu augšanas un attīstības galvenās funkcijas (piemēram, kukaiņu piesaistīšana apputeksnēšanai un sēklu izplatīšanai) (Gould, Lister, 2006). Šie fenolu klases apakšgrupas pārstāvji ir gandrīz visur esoši zaļo augu šūnās (Dewick, 1990) un parasti sastopami kā ūdenī šķīstoši glikozīdi.

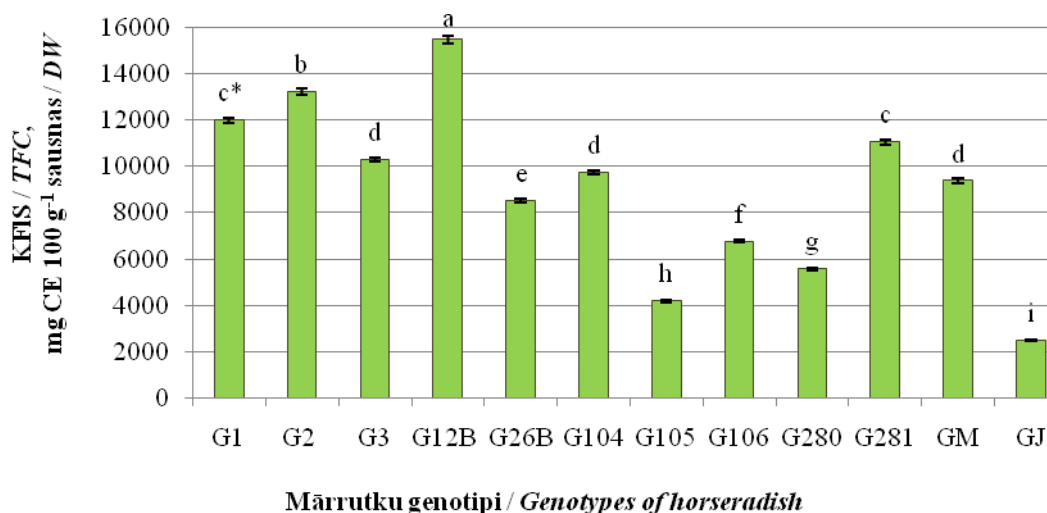
**KFS mārrutku saknēs dažādos novākšanas laikos /**  
**TPC of horseradish roots at different harvest times, mg GAE 100 g<sup>-1</sup> sausnas / DW**

Mārrutku genotipi / Genotypes of horseradish	Novākšanas laiks / Harvest time		
	I – 2011. gada augusts / In August 2011	II – 2011. gada septembris / In September 2011	III – 2011. gada novembris / In November 2011
G1	246.93±2.22 <sup>h</sup>	217.80±5.81 <sup>d</sup>	225.93±1.07 <sup>e</sup>
G2	252.30±4.06 <sup>h</sup>	237.83±374 <sup>e</sup>	276.01±11.18 <sup>i</sup>
G3	184.74±2.27 <sup>c</sup>	194.94±4.68 <sup>c</sup>	206.82±5.91 <sup>d</sup>
G12B	232.40±5.60 <sup>g</sup>	224.52±2.01 <sup>d</sup>	248.72±1.08 <sup>g</sup>
G26B	200.99±5.79 <sup>e</sup>	160.14±1.41 <sup>b</sup>	205.17±1.63 <sup>c,d</sup>
G104	219.50±8.40 <sup>f</sup>	168.08±12.00 <sup>b</sup>	198.47±1.44 <sup>c</sup>
G105	230.80±10.29 <sup>g</sup>	273.90±11.21 <sup>f</sup>	238.03±2.75 <sup>f</sup>
G106	192.50±4.01 <sup>d</sup>	307.52±5.35 <sup>h</sup>	268.42±5.52 <sup>h</sup>
G280	409.16±12.10 <sup>j</sup>	503.54±5.86 <sup>j</sup>	349.25±7.55 <sup>k</sup>
G281	283.16±6.26 <sup>i</sup>	360.64±12.99 <sup>i</sup>	286.93±6.34 <sup>j</sup>
GM	94.69±2.89 <sup>a</sup>	109.93±2.06 <sup>a</sup>	100.63±2.19 <sup>a</sup>
GJ	170.04±2.90 <sup>b</sup>	282.82±3.01 <sup>g</sup>	179.82±2.73 <sup>b</sup>

\*Dažādie burti vienā kolonnā apzīmē būtiski nozīmīgas atšķirības starp vērtībām (Tjūkija tests,  $p < 0,05$ ) / The different letters in the same column represents significant differences between values (Tukey's test,  $p < 0.05$ ).

Flavonoīdi augos tiek sintezēti no fenilalanīna pa fenilpropanoīda ceļu endoplazmas tīklojumā un uzglabāti galvenokārt vakuolās (Dewick, 1990; Naczk, Shahidi, 2003). Tāpat kā fenolu, arī flavonoīdu saturs ir atkarīgs no augu nogatavošanās pakāpes (Naczk, Shahidi, 2006) un lielākais kopējais flavonoīdu saturs (KFIS), līdzīgi kā KFS, mārrutku lapās tika konstatēts jūnijā (3.1. tab.), bet jau jūlijā novāktajās mārrutku lapās tas bija 5,40 reizes mazāks, augustā – 2,25, septembrī – 1,67 reizes mazāks. Flavonoīdu sintēzes norisi un gala rezultātu ietekmē daudzi strukturāli un funkcionāli fermenti (Naczk, Shahidi, 2003), kas ir atšķirīgi dažādās šķirnēs, sugās un genotipos (Naczk, Shahidi, 2006).

Mārrutku lapās, kas novāktas augustā, KFIS svārstījās no 2485,8±24,5 līdz 15510±128 mg CE 100 g<sup>-1</sup> sausnas (3.2. att.).



**3.2. att. Kopējais flavonoīdu saturs dažāda genotipa mārrutku lapās /**

**Fig. 3.2. Total flavonoids content of horseradish leaves dependent on the genotype**

\*Vērtības, kas atzīmētas ar vienu un to pašu burtu, nav būtiski atšķirīgas savā starpā, ja  $p < 0,05$  / Mean values marked with the same letter do not differ significantly at  $p < 0.05$ .

Līdzīgi kā KFS, arī šeit mazāko saturu uzrādīja GJ, bet lielāko G12B, pie kam vērojama tendence, ka genotipiem ar augstāku KFS arī KFIS ir augstāks, par ko liecina arī korelācijas koeficients  $r = 0,95$ .

Grupējot klasteros dažāda genotipa mārrutku lapas pēc fenolu savienojumu satura, mārrutku genotipa G12B lapas ar noteikto augstāko KFS un KFIS tiek izdalītas atsevišķā klasterī. Flavonoīdu biosintēzi izraisa daudzi atšķirīgi stresori, no kuriem vispazīstamākie ir UV starojums, intensīva gaisma, temperatūras svārstības un ozons (Gould, Lister, 2006), kas izskaidro lielāku flavonoīdu saturu virszemes augu daļās. Arī mārrutku saknēs KFIS bija vidēji 56 reizes mazāks nekā lapās (3.2. att. un 3.3. tab.). Arī pētījumos par KFS un KFIS 11 genotipu sīpolos KFS un KFIS attiecības katram genotipam ir ļoti atšķirīgas (Sinha, 2011).

3.3. tabula / Table 3.3

**KFIS un atsevišķo fenolu savienojumu saturs dažāda genotipa mārrutku saknēs /  
TFC of horseradish roots depending on the genotype**

Mārrutku genotipi / Genotypes of horseradish	KFIS / TFC, mg CE 100 g <sup>-1</sup> sausnas / DW	Rutīns / Rutine, mg 100 g <sup>-1</sup> sausnas / DW	Katehīns / Catechin, mg 100 g <sup>-1</sup> sausnas / DW	Hlorogēnskābe / Chlorogenic acid, mg 100 g <sup>-1</sup> sausnas / DW
G1	275,51±2.22 <sup>b*</sup>	1.71±0.03 <sup>d</sup>	2.90±0.04 <sup>i</sup>	0.41±0.02 <sup>c</sup>
G2	219,54±4.06 <sup>d</sup>	5.51±0.06 <sup>g</sup>	0.77±0.01 <sup>e</sup>	0.13±0.01 <sup>b</sup>
G3	245,32±2.27 <sup>c</sup>	0.03±0.00 <sup>a</sup>	0.14±0.01 <sup>b</sup>	0.04±0.00 <sup>a</sup>
G12B	172,69±5.60 <sup>e</sup>	5.58±0.06 <sup>g</sup>	2.64±0.04 <sup>h</sup>	0.64±0.02 <sup>d</sup>
G26B	127,41±5.79 <sup>f</sup>	0.10±0.01 <sup>a</sup>	0.82±0.02 <sup>e</sup>	0.13±0.01 <sup>b</sup>
G104	127,22±8.40 <sup>f</sup>	0.65±0.01 <sup>b</sup>	0.88±0.01 <sup>f</sup>	0.15±0.01 <sup>b</sup>
G105	105,70±8.29 <sup>g</sup>	3.67±0.04 <sup>f</sup>	0.37±0.01 <sup>d</sup>	1.00±0.03 <sup>e</sup>
G106	115,18±4.01 <sup>f,g</sup>	0.70±0.02 <sup>b</sup>	0.07±0.00 <sup>a</sup>	0.16±0.01 <sup>b</sup>
G280	261,53±9.10 <sup>b,c</sup>	1.51±0.02 <sup>c</sup>	1.97±0.05 <sup>g</sup>	1.13±0.04 <sup>f</sup>
G281	130,39±6.26 <sup>f</sup>	3.07±0.03 <sup>e</sup>	0.25±0.02 <sup>c</sup>	0.43±0.02 <sup>c</sup>
GM	215,29±2.89 <sup>d</sup>	0.03±0.00 <sup>a</sup>	0.39±0.02 <sup>d</sup>	0.40±0.01 <sup>c</sup>
GJ	791,92±7.63 <sup>a</sup>	6.61±0.07 <sup>h</sup>	4.34±0.05 <sup>j</sup>	8.77±0.07 <sup>g</sup>

\*Dažādie burti vienā kolonnā apzīmē būtiski nozīmīgas atšķirības starp vērtībām (Tjūkija tests,  $p < 0,05$ ) / The different letters in the same column represents significant differences between values (Tukey's test,  $p < 0.05$ ).

Turklāt bija vērojama īpatnība, ka genotipa G12B lapās bija vislielākais KFIS, bet saknēs tikai vidējs saturs, salīdzinot ar pārējiem analizētajiem paraugiem. Savukārt genotipa GJ lapās bija vismazākais KFIS, turpretī saknēs tas bija vislielākais.

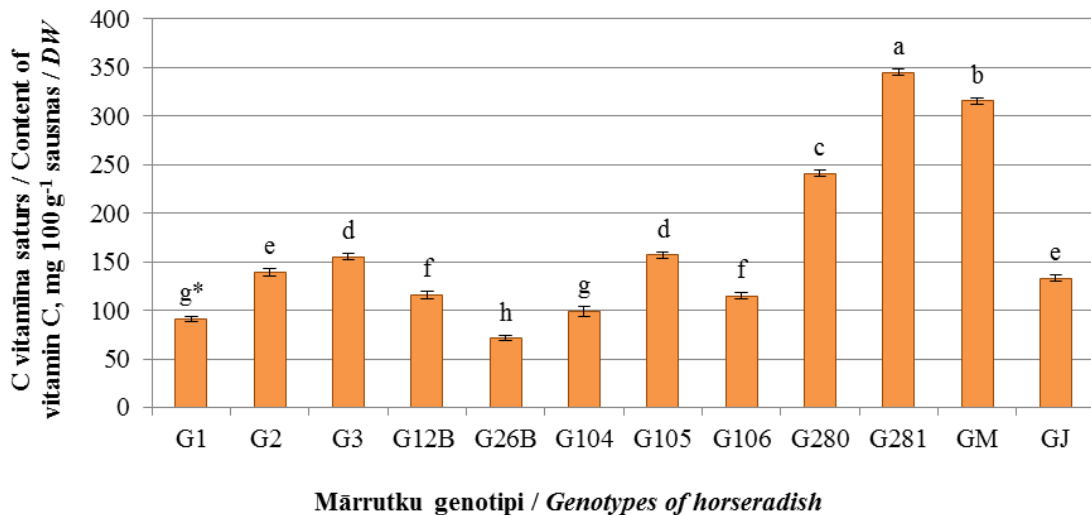
Mārrutku lapās gandrīz starp visiem genotipiem, izņemot G3, G104 un GM, bija būtiskas KFIS atšķirības ( $p < 0,05$ ), bet starp vairāku genotipu (G1 un G280; G3 un G280; G26B un G104, G106 un G281; G105 un G106) saknēm nebija vērojamas būtiskas atšķirības ( $p < 0,05$ ) KFIS.

Atsevišķo fenolu savienojumu saturs. Pētījumos tika noteikts, ka gan mārrutku lapās, gan saknēs no pētītajiem fenolu savienojumiem nozīmīgākie ir rutīns, katehīns un hlorogēnskābe. Salīdzinot atsevišķo fenolu savienojumus viena mārrutku genotipa lapās un saknēs, tika konstatēts, ka lapās to ir vairāk. Tā, piemēram genotipa GJ lapās rutīns ir 23,76 mg 100 g<sup>-1</sup> sausnas, bet hlorogēnskābe – 10,16 mg 100 g<sup>-1</sup> sausnas, kas ir attiecīgi 3,59 un 1,16 reizes vairāk nekā šī paša genotipa mārrutku saknēs. Arī genotipa GJ saknēs abi šie fenolu savienojumi bija visvairāk no analizētajiem atsevišķajiem fenolu savienojumiem. Pētīto genotipu mārrutku saknēs augstākais analizēto fenolu savienojumu saturs konstatēts genotipa GJ mārrutku saknēs (3.3. tab.), savukārt zemākais – GM un G3. Citos krustziežu dārzeņos, piemēram, ziedkāpostos, hlorogēnskābe ir 0,14 mg 100 g<sup>-1</sup> produkta, *p*-kumarīnskābe 0,31 mg 100 g<sup>-1</sup> un

sinapīnskābe 0,15 mg 100 g<sup>-1</sup> produkta (Mattila, Hellstrom, 2007; Hounscome, Hounscome, 2011).

**C vitamīns.** C vitamīna jeb askorbīnskābes bioloģiskā nozīme pamatojas uz tās spēju piedalīties fermentatīvajās reakcijās (Dūma et al., 2014).

Eksperimentu rezultāti parādīja, ka C vitamīna saturs dažādu genotipu mārrutku saknēs bija atšķirīgs. Savstarpēji līdzīgs C vitamīna saturs tika konstatēts mārrutku genotipu G2 un GJ, kā arī G3 un G105, un G12B, un G106 (3.3. att.) saknēs.



**3.3. att. C vitamīna saturs svaigās dažāda genotipa mārrutku saknēs / Fig. 3.3. Content of vitamin C in fresh horseradish roots dependent on the genotype**

\* Vērtības, kas atzīmētas ar vienu un to pašu burtu, nav būtiski atšķirīgas savā starpā, ja  $p < 0,05$  / Mean values marked with the same letter do not differ significantly at  $p < 0.05$ .

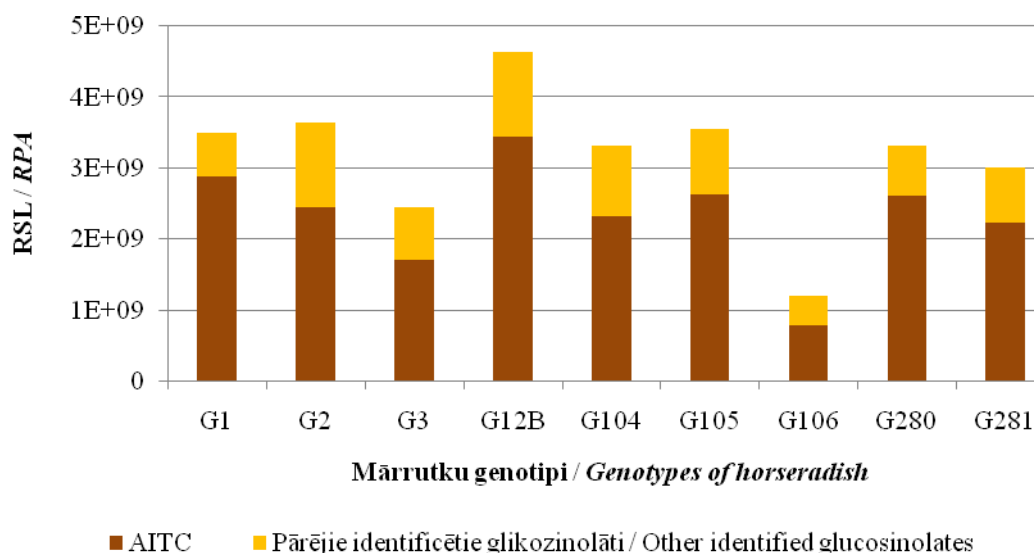
Augstākais C vitamīna saturs konstatēts mārrutku genotipa G281 saknēs 344,93 mg 100 g<sup>-1</sup> sausas (97,63 mg 100 g<sup>-1</sup> svaiga produkta), bet genotipa G26B saknēs zemākais – 71,10 mg 100 g<sup>-1</sup> sausas (23,97 mg 100 g<sup>-1</sup> svaiga produkta), pie kam šādas atšķirības tika novērotas viena gada griezumā vienādos klimatiskajos un agronomiskajos apstākļos. C vitamīna saturs svaigās mārrutku saknēs var būt līdz pat 114 mg 100 g<sup>-1</sup> svaiga produkta (Melgalve, 1987) vai 302 mg 100 g<sup>-1</sup> sausas (Raghavan, 2000). Askorbīnskābes saturu dārzeņos ļoti ietekmē augšanas apstākļi, slāpekļa mēslojums, kā arī uzglabāšanas apstākļi un apstrāde (Rickman et al., 2007; Miglio et al., 2008). Pētījumos ir pierādīts, ka AS „Pūres Dārzkopības pētījumu centrs” audzētajās mārrutku saknēs C vitamīna saturs ir zemāks, ko iespējams skaidrot ar genotipu īpatnībām. Šis vitamīns ir ļoti labils savienojums, kas dažādu ārējās vides faktoru ietekmē zaudē savu bioloģisko aktivitāti. Produktu uzglabāšanas laikā tas fermentu klātbūtnē oksidējas, tāpēc ilgstoši glabātos dārzeņos tā daudzums stipri samazinās, arī metālu jonu klātbūtnē veicina vitamīna sadalīšanos (Piljac-Žegarac et al., 2009).

C vitamīna saturs citos krustziežu dzimtas augos ir zemāks nekā mārrutkos, piemēram, sarkanajos kāpostos tas ir 37 mg 100 g<sup>-1</sup> produkta, spinātos – 7–56 mg 100 g<sup>-1</sup> produkta, kāpostos 28–60 mg 100 g<sup>-1</sup> produkta, ziedkāpostos – 15–79 mg 100 g<sup>-1</sup> produkta, brokoļos 45–87 mg 100 g<sup>-1</sup> produkta (Proteggente et al., 2003; Hounscome, Hounscome, 2011).

**Gaistošo vielu saturs.** Gaistošie savienojumi izdalās no garšaugiem un ir cieši saistīti ar to smaržu, ko iespējams izmantot arī kvalitātes novērtēšanai. Šo savienojumu sastāvs un saturs ievērojami atšķiras ģenētiskā fona ietekmē.

Sēru saturošie organiskie savienojumi – glikozinolāti tiek sintezēti citosolā un vēlāk uzkrājas vakuolās. Pēc audu sagraušanas glikozinolāti strauji hidrolizējas fermenta mirozināzes ietekmē (Grubb, Abel, 2006; Halkier, Gershenzon, 2006). Mārrutku sakne pati par sevi nedod daudz aromāta, bet pēc mehāniskas iejaukšanās (rīvēšana, griešana vai sasmalcināšana) izdala asu, dedzinošu smaržu, kas ļoti ātri pazūd. Šiem augiem piemīt arī asa, dedzinoša un rūgta garša, un tie galvenokārt satur sinigrīnu un tā atvasinājumus AITC, dialilsulfātus (DAS), fenilpropiltiocianātus (PPTC) un feniltiocianātus (PETC) (Raghavan, 2000).

Balstoties uz genotipa izcelsmi, gaistošo savienojumu kopējo relatīvo smaiļu laukumi (RSL) analizētajos mārrutku sakņu paraugos parādīja, ka RSL genotipam G12B bija būtiski ( $p < 0,05$ ) lielāks, bet genotipiem G281, G3 un G106 bija būtiski ( $p < 0,05$ ) mazāks (3.4. att.).



**3.4. att. Kopējo identificēto gaistošo savienojumu relatīvo smaiļu laukumi dažāda genotipa mārrutku saknēs /**

**Fig. 3.4. Relative peak area of the volatile compounds of horseradish roots depending on the genotype**

4. pielikumā ir uzskaitītas galvenās gaistošās vielas (kuru saturs ir vairāk nekā 0,1%) un dažas katram genotipam īpašas gaistošās vielas. Pavisam tika konstatēti 15 gaistošie savienojumi, no kuriem divi tika konstatēti tikai dažu genotipu saknēs (izobutilizotiocianāts (IBuITC) tika atrasts G105, G1, G104, G3, un G106, bet pentil-ITC – visos genotipos, izņemot G106). No identificētajiem savienojumiem, ITC veidoja lielāko gaistošo vielu klasi (pavisam tika identificēti deviņi ITC). Korejas pētnieki ziņo, ka mārrutku ēteriskā eļļa satur 94% AITC, kas ir ITC klases savienojums (Park et al., 2006). Pētījumu rezultāti liecina par līdzīgu sastāvu, un galvenais savienojums visos mārrutku paraugos bija AITC, kas veidoja 64–82% kopējo identificēto gaistošo savienojumu. AITC ir veidojies no glikozīda sinigrīna, un šis savienojums piedod asu, dedzinošu garšu un smaržu gan mārrutkiem, gan sinepēm (Belitz et al., 2009).

Starp deviņiem mārrutku genotipiem, genotipu G1, G104 un G105 saknēs identificēja visplašāko gaistošo savienojumu klāstu. Mārrutku aromātu ietekmē arī metil-, etil-, izopropil- un 4-pentēnil- ITC, kuri tomēr ir ļoti mazā daudzumā, salīdzinot ar AITC (Belitz et al., 2009).

Arī literatūras dati liecina, ka citos krustziežu dzimtas augos identificētie svarīgākie gaistošie savienojumi pieder ITC klasei.

Datu matemātiskā apstrāde parādīja, ka atšķirības starp atsevišķiem savienojumiem dažādos genotipos bija būtiskas ( $p < 0,05$ ). Arī pētnieki no Jaunzēlandes ir ziņojuši, ka gaistošo savienojumu saturs atšķiras dažādos genotipos *Actinidia arguta* (Matich et al., 2003) un *Hyptis pectinata* (Arrigoni-Blank et al., 2008).

Nosakot attiecības starp gaistošajiem savienojumiem (5. pielikumā), tika konstatēta ļoti cieša pozitīva korelācija ( $r = 0,91$ ,  $p < 0,01$ ) starp neidentificētajiem savienojumiem (RT 28,86) un ciklopentilzotiocianātus (CPITC), bet korelācija starp PEITC un AITC bija ļoti cieša un negatīva ( $r = -0,93$ ,  $p < 0,01$ ).

Hierarhiskā klasteru analīze tika izmantota, lai sagrupētu datu kopumu no 15 mainīgajiem (gaistošie savienojumi) un 9 genotipu mārrutku saknēm, kā rezultātā mārrutku sakņu paraugus pēc gaistošo savienojumu satura var iedalīt 5 klasteros (3.4. tab.).

3.4. tabula / Table 3.4

**Mārrutku sakņu sadalījums klasteros pēc galveno gaistošo savienojumu satura /  
*Horseradish root distribution in clusters by the main volatile compounds (smallu  
laukums, % kopējā laukuma / peak area % of the total area)***

Klasteri / Cluster	Genotips / Genotype	2-BuITC	AITC	3-metilBuITC	CPITC
1	G2, G104, G105, G281	0.81–1.92	68.99–74.46	11.11–12.62	0.37–2.82
2	G12B, G280	1.82–2.81	75.61–79.10	12.74–14.58	0.26
3	G1	2.00	81.82	5.14	3.20
4	G3	1.18	71.34	2.64	4.36
5	G106	2.15	63.60	6.38	0.69

Balstoties uz identificēto gaistošo savienojumu koncentrāciju, mārrutku genotipi G1, G3 un G106 nodalāmi atsevišķos klasteros no citiem genotipiem ar zemāko kopējo gaistošo savienojumu koncentrāciju. Šis sadalījums klasteros atšķiras nodalījuma klasteros pēc fenolu savienojumu satura. Tas skaidrojams ar to, ka gaistošie organiskie savienojumi un fenolu savienojumi veidojas dažādu biosintēzes procesu rezultātā (Velišek, Cejpek, 2008).

**Mārrutku antioksidantu aktivitātes (AA) izvērtējums.** Liela daļa fenolu savienojumu izrāda antioksidantu aktivitāti (Kammerer et al., 2012), pie kam flavonoīdu spēja darboties kā klasiskiem elektronu vai ūdeņraža atomu donoriem ir plaši aprakstīta (Arts et al., 2001; Rice-Evans et al. 1996; Hollman et al., 1999), kā arī aizsargā pret oksidatīvu bojāšanos, kas ir atšķirīga dažādās šūnu biomolekulās (Spencer, 2005).

Daudzfaktoru dispersijas analīzes rezultāti parādīja, ka augu materiāls ir būtisks faktors, kas ietekmē DPPH<sup>·</sup>, ABTS<sup>·+</sup> un reducēšanas spēju ( $p < 0,05$ ).

Eksperimentos noteiktā antiradikālā aktivitāte (ArA) jeb ABTS<sup>·+</sup> un DPPH<sup>·</sup> radikāļu saistīšanas spēja rāda dažas atšķirības (3.5. tab.).

Salīdzinot ArA dažādu mārrutku genotipu lapās, ar DPPH<sup>·</sup> metodi lielāko aktivitāti konstatēja mārrutku genotipa G281, bet mazāko – GJ lapās (3.5. tab.), pie kam genotipa GJ lapās bija arī mazākais KFS un KFIS. Savukārt ar ABTS<sup>·+</sup> metodi starp visiem genotipiem G12B demonstrēja augstāko tiešo AA, kas saskan arī ar lielāko fenolu un

flavonoīdu saturu šī paša genotipa lapās, tajā pašā laikā mazāko aktivitāti konstatēja genotipa G105 lapās.

3.5. tabula / Table 3.5

**ArA dažādu genotipu mērrutku lapās un saknēs / SA in different genotypes of horseradish leaves and stems, mM TE 100 g<sup>-1</sup> sausnas / DW**

Genotips / Genotype	Lapās / Leaves		Saknēs / Roots	
	DPPH <sup>·</sup>	ABTS <sup>·+</sup>	DPPH <sup>·</sup>	ABTS <sup>·+</sup>
G1	66.36±2.24 <sup>c,d*</sup>	64.87±1.04 <sup>c</sup>	5.75±0.11 <sup>a,b*</sup>	2.76±0.09 <sup>d,e</sup>
G2	66.40±4.06 <sup>c,d</sup>	72.18±1.60 <sup>b</sup>	9.71±0.21 <sup>a</sup>	6.67±0.11 <sup>a,b</sup>
G3	60.69±2.27 <sup>d,e</sup>	56.24±1.25 <sup>d</sup>	6.90±0.39 <sup>a,b</sup>	3.44±0.09 <sup>b,c,d</sup>
G12B	81.27±5.06 <sup>b</sup>	83.84±1.93 <sup>a</sup>	7.94±0.13 <sup>a,b</sup>	4.96±0.13 <sup>d,e</sup>
G26B	56.95±2.68 <sup>e</sup>	45.47±1.81 <sup>f</sup>	6.17±0.09 <sup>a,b</sup>	3.04±0.08 <sup>a,b,c,d</sup>
G104	64.61±4.89 <sup>c,d,e</sup>	56.86±1.90 <sup>d</sup>	6.79±0.05 <sup>a,b</sup>	4.17±0.05 <sup>a,b,c,d</sup>
G105	71.23±5.20 <sup>c</sup>	23.55±1.25 <sup>h</sup>	5.68±0.27 <sup>a,b</sup>	3.37±0.17 <sup>c,d</sup>
G106	69.54±3.30 <sup>c,d,e</sup>	26.72±1.07 <sup>g</sup>	7.81±0.52 <sup>a,b</sup>	5.28±0.22 <sup>a,b,c,d</sup>
G280	64.15±4.37 <sup>c,d,e</sup>	27.59±0.92 <sup>g</sup>	8.54±0.76 <sup>a,b</sup>	6.57±0.26 <sup>a,b,c</sup>
G281	92.00±6.26 <sup>a</sup>	65.29±1.27 <sup>c</sup>	6.62±0.63 <sup>a,b</sup>	3.55±0.13 <sup>a,b,c,d</sup>
GM	62.57±2.83 <sup>c,d,e</sup>	50.67±1.31 <sup>e</sup>	6.59±0.22 <sup>a,b</sup>	4.31±0.12 <sup>a,b,c,d</sup>
GJ	29.33±1.92 <sup>f</sup>	70.43±1.92 <sup>b</sup>	11.20±0.80 <sup>a</sup>	6.70±0.08 <sup>a</sup>

\* Dažādie burti vienā kolonnā apzīmē būtiski nozīmīgas atšķirības starp vērtībām (Tjūkija tests,  $p < 0,05$ ) / The different letters in the same column represents significant differences between values (Tukey's test,  $p < 0.05$ ).

Aplūkojot rezultātus, kas iegūti ar ABTS<sup>·+</sup>metodi, starp visiem paraugiem bija būtiskas atšķirības, tajā pašā laikā ar DPPH<sup>·</sup>metodi starp vairāku genotipu (G104, G280 un GM, kā arī G1 un G2) lapām nebija būtiskas atšķirības. Mērrutku lapas (3.5. att.), nosakot ArA pēc abām metodēm, savu maksimālo aktivitāti sasniedz dažādos novākšanas laikos.

Analizējot ar ABTS<sup>·+</sup>metodi, ArA svārstās līdzīgi kā KFS un KFIS. Tāpat kā mērrutku lapām, arī mērrutku saknēm skaitliski lielāku aktivitāti konstatēja ar DPPH<sup>·</sup>metodi, salīdzinot ABTS<sup>·+</sup>metodi. Neraugoties uz atšķirībām, pēc abām ArA mērīšanas metodēm, viena genotipa (GJ) paraugi uzrādīja vislielāko aktivitāti. Tajā pašā laikā mazāko aktivitāti ar DPPH<sup>·</sup>metodi uzrādīja mērrutku genotipa G105 saknes, kas saskan ar KFIS saturu mērrutku saknēs.

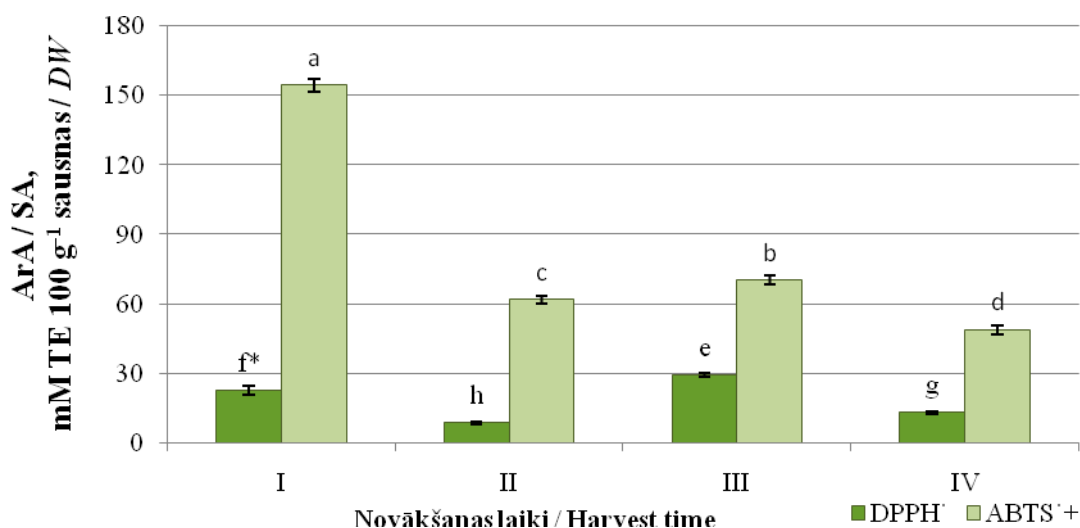
Antioksidantu potenciāls ir atkarīgs no hidroksilgrupu skaita un izkārtojuma, kā arī elektronu donoro aizvietotāju klātbūtnes benzola gredzena struktūrā (Elzaawely et al., 2007). Mērrutku atsevišķās daļas satur strukturāli atšķirīgus fenolu savienojumus, un rezultātā arī to ArA ir dažāda.

Mērrutku lapās konstatētā ArA bija vidēji 9,96 reizes lielāka nekā mērrutku saknēs (3.5. tab.). ArA vērojama tāda pati iezīme kā fenolu savienojumiem, un lielākā ArA nav vērojama viena genotipa gan lapās, gan saknēs. Vislielāko aktivitāti ar DPPH<sup>·</sup>konstatēja mērrutku genotipa G281 lapās, bet ar ABTS<sup>·+</sup>metodi genotipa G12B lapās.

Arī grupējot klasteros mērrutku lapas pēc tiešo AA un fenolu savienojumu satura, mērrutku genotips G12B ar augstu fenolu savienojumu saturu un tiešo AA izdalās atsevišķā klasterī.

Daudzvāriāciju dispersijas analīzes rezultāti parādīja, ka mērrutku saknēs gan genotips, gan arī ražas novākšanas laiks būtiski ( $p < 0,05$ ) ietekmē DPPH<sup>·</sup>radikāļu saistīšanas aktivitāti. Tie skaidri norāda uz mijiedarbību starp mērrutku genotipu un novākšanas laiku. Tjūkija testa rezultāti parādīja būtiskas atšķirības ( $p < 0,05$ ) starp genotipiem un novākšanas laiku.





**3.5. att. Antiradikālā aktivitāte genotipa GJ mārrutku lapās dažādos novākšanas laikos /**

**Fig. 3.5. Scavenging activity of horseradish leaves of genotype GJ by different harvest times**

\* Vērtības, kas atzīmētas ar vienu un to pašu burtu, nav būtiski atšķirīgas savā starpā, ja  $p < 0,05$  / Mean values marked with the same letter do not differ significantly at  $p < 0.05$ .

I – ražas novākšana 2011. gada jūnijā / harvest time for June 2011, II – ražas novākšana 2011. gada jūlijā / harvest time for July 2011, III – ražas novākšana 2011. gada augustā / harvest time for August 2011, IV – ražas novākšana 2011. gada septembrī / harvest time for September 2011.

Augstākā DPPH<sup>·</sup> ArA tika konstatēta mārrutku genotipa GM saknēs augustā, savukārt viszemākā šī paša genotipa saknēs novembrī (3.6. tab.). ArA mārrutku saknēs būtiski atšķirās atkarībā no ražas novākšanas laika, un septiņu mārrutku genotipu saknēs augstākā ArA noteikta pēc ražas novākšanas septembrī.

3.6. tabula / Table 3.6

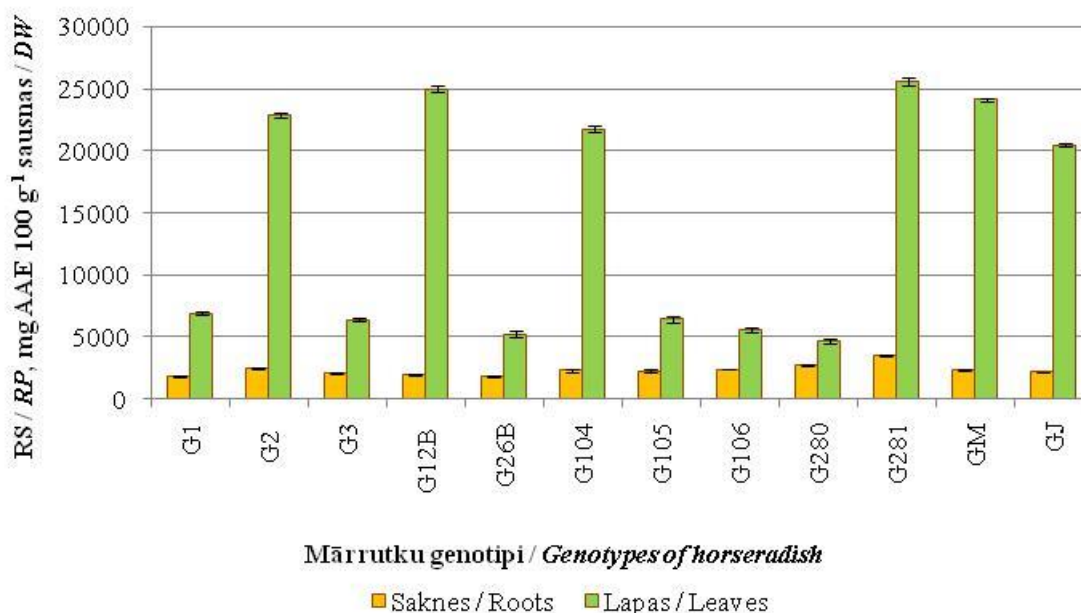
**DPPH<sup>·</sup> radikāļu saistīšanas aktivitāte mārrutku saknēs dažādos novākšanas laikos / DPPH<sup>·</sup> scavenging activity of horseradish roots at different harvest times, mM TE 100 g<sup>-1</sup> sausas, DW**

Mārrutku genotipi / Genotypes of horseradish	Novākšanas laiks / harvest times		
	I – 2011. gada augusts / In August 2011	II – 2011. gada septembris / In September 2011	III – 2011. gada novembris / In November 2011
G1	8.35±0.24 <sup>d*</sup>	6.73±0.16 <sup>b</sup>	5.61±0.22 <sup>e</sup>
G2	7.82±0.38 <sup>d</sup>	9.92±0.33 <sup>e</sup>	2.32±0.09 <sup>a</sup>
G3	6.11±0.31 <sup>b,c</sup>	6.51±0.17 <sup>b</sup>	4.03±0.05 <sup>c</sup>
G12B	6.50±0.34 <sup>b,c</sup>	8.12±0.25 <sup>d</sup>	3.39±0.17 <sup>b</sup>
G26B	6.41±0.20 <sup>b,c</sup>	5.54±0.15 <sup>a</sup>	5.98±0.28 <sup>e,f</sup>
G104	8.67±0.30 <sup>d</sup>	5.53±0.23 <sup>a</sup>	4.84±0.11 <sup>d</sup>
G105	4.52±0.27 <sup>a</sup>	6.83±0.14 <sup>b</sup>	4.37±0.10 <sup>d</sup>
G106	5.66±0.33 <sup>b</sup>	7.54±0.10 <sup>c</sup>	3.82±0.32 <sup>b,c</sup>
G280	6.75±0.22 <sup>c</sup>	12.72±0.23 <sup>g</sup>	6.27±0.21 <sup>f</sup>
G281	6.41±0.33 <sup>b,c</sup>	9.43±0.18 <sup>e</sup>	6.32±0.36 <sup>f</sup>
GM	13.47±0.20 <sup>e</sup>	7.92±0.16 <sup>c,d</sup>	2.30±0.04 <sup>a</sup>
GJ	7.94±0.41 <sup>d</sup>	11.20±0.21 <sup>f</sup>	4.81±0.11 <sup>d</sup>

\* Dažādie burti vienā kolonnā apzīmē būtiski nozīmīgas atšķirības starp vērtībām (Tjūkija tests,  $p < 0,05$ ) / The different letters in the same column represents significant differences between values (Tukey's test,  $p < 0.05$ ).

Atsevišķu mārrutku genotipu (G1 un G104) saknēs lielākais fenolu savienojumu saturs bija augustā, tāpat kā ArA mārrutku genotipu G1, G26B, G104 un GM saknēs šajā pašā novākšanas laikā (3.6. tab.). Mārrutku genotipu G1, G104 un GM saknēs ArA demonstrē līdzīgas tendences un savu maksimumu sasniedz augustā.

Līdzīgi kā KFS un KFIS mārrutku lapās bija arī lielāka reducēšanas spēja, salīdzinot ar mārrutku saknēm (3.6. att.), un tā svārstījās no 4621,6 (G280) līdz 25 641,8 (G281) mg AAE 100 g<sup>-1</sup> sausnas.



**3.6. att. Reducēšanas spēja dažādu genotipu mārrutku lapās un saknēs /**  
**Fig. 3.6. Reducing power of horseradish leaves and roots dependent on the genotype**

Mārrutku saknēm šī aktivitāte bija vidēji 6,37 reizes mazāka nekā lapām (3.6. att.) un mazāko reducēšanas spēju demonstrēja mārrutku genotipa G26B (1796,9 mg AAE 100 g<sup>-1</sup> sausnas), bet lielāko genotipa G281 (3462,0 mg AAE 100 g<sup>-1</sup> sausnas) saknes. Vislielāko reducēšanas spēju uzrādīja mārrutku genotipa G281 lapas, pie kam arī starp saknēm šim genotipam bija visaugstākā reducēšanas spēja. Var secināt, ka arī mārrutkiem šī aktivitāte ir atkarīga no genotipa, kā arī no auga daļas.

Dažādos novākšanas laikos mārrutku genotipa GJ lapās tika konstatēta atšķirīga reducēšanas spēja, kas jūnijā bija novērtēta ar 9573,3±92,1 mg AAE 100 g<sup>-1</sup> sausnas, bet jau jūlijā 2872,9±86,7 mg AAE 100 g<sup>-1</sup> sausnas, ko iespējams skaidrot ar mārrutku lapu ķīmiskā sastāva izmaiņām pēcziedēšanas periodā. Salīdzinot KFS un KFIS tendences šajā laika posmā ar netiešo AA, redzams, ka tās ir līdzīgas. Savukārt augustā novāktajās mārrutku lapās reducēšanas spēja palielinājās līdz 8548,15±105,94 mg AAE 100 g<sup>-1</sup> sausnas un septembrī 20459,7±115,6 mg AAE 100 g<sup>-1</sup> sausnas, sasniedzot savu maksimumu. Tas liek domāt, ka no jūlija līdz septembrim mārrutku lapās veidojas kādi ķīmiski savienojumi, kas nodrošina šo reducēšanas spēju.

**Sakarības starp mārrutku bioloģiski aktīvajiem savienojumiem un AA.** Visi fenolu savienojumi lielākā vai mazākā mērā darbojas kā saistīto radikāļu stabilizējošie aģenti (Kammerer et al., 2012). Ekstraktu AA bieži ir saistīta ar tā fenolu

komponentiem, tādēļ, lai noteiktu attiecības starp šiem parametriem, izmantotas regresijas un korelācijas analīzes.

Mārrutku lapās flavonoīdi ir svarīga fenolu savienojumu daļa, par ko liecina arī ļoti cieša sakarība ( $r = 0,99$ ,  $p < 0,01$ ) starp KFS un KFIS. Mārrutku saknēm šī sakarība bija ļoti vāja ( $r = 0,23$ ,  $p < 0,05$ ), un tas liek domāt, ka saknēs vēl līdz ar flavonoīdiem pārsvarā ir citu fenolu grupu savienojumi.

Pētījumos mārrutku lapas uzrādīja ciešu korelāciju starp KFS un KFIS un ArA ( $r = 0,82$  un  $r = 0,77$ , ja attiecīgi  $p < 0,01$ ), kas noteikta ar DPPH<sup>·</sup> brīvā radikāļa metodi, kamēr mārrutku saknēm šī sakarība bija vāja. Tas arī izskaidro lielās ArA atšķirības starp mārrutku saknēm un lapām, kur lapās šī aktivitāte 2 – 14 reizes lielāka nekā saknēs.

Fenolu sastāvs ietekmē brīvo radikāļu saistīšanas spējas, un daudzi fenolu savienojumi, tajā skaitā galluskābe, kumarīnskābe, epikatehīns u.c., ir aktīvi antioksidanti (Sinha, 2011). No literatūras zināms, ka galluskābei piemīt ArA, un no atsevišķajiem fenolu savienojumiem mārrutku saknēs galluskābe demonstrēja vidēji ciešu ( $r = 0,69$ ,  $p < 0,01$ ) un ciešu ( $r = 0,79$ ,  $p < 0,01$ ) korelāciju attiecīgi ar DPPH<sup>·</sup> un ABTS<sup>·+</sup>.

Antioksidatīvās īpašības piemīt tādiem sēru saturošajiem organiskajiem savienojumiem kā dialildisulfīdam, dipropildisulfīdam u.c. (Sinha, 2011), bet mārrutku saknēs pārkumā esošais AITC izceļas tikai ar asu vai dedzinošu garšu un smaržu, bez ArA (Drewnowski, Gomez-Carneros, 2000). To apliecina arī mārrutku saknēs konstatēto gaistošo savienojumu korelācijas ar ArA, un ar AITC tā bija ļoti vāja ( $r = 0,11$  DPPH<sup>·</sup>  $p < 0,05$ ), līdz ar to šie savienojumi tālākajos eksperimentos kā antioksidanti netika pētīti. Ciešāko pozitīvo korelāciju no gaistošajiem savienojumiem ar antioksidantiem izrādīja metil-BuITC ( $r = 0,48$  ABTS<sup>·+</sup>  $p < 0,05$ ), bet ciešāko negatīvo korelāciju – IBuITC ( $r = 0,50$  ABTS<sup>·+</sup>  $p < 0,05$ ).

Askorbīnskābe ir polārs savienojums, kas spēj reaģēt ar brīvajiem radikāļiem un reaktīvo skābekli, pie kam tas aizsargā pret UV starojumu (Bossi et al., 2000). Šis savienojums darbojas ne tikai kā antioksidants, bet arī kā sinerģists, atjaunojot fenolu savienojumu aktivitāti un saistot prooksidantus – metālu jonus (Halliwell, 2008). Mārrutku saknēm C vitamīns izrādīja negatīvu un vāju ( $r = -0,21$  DPPH<sup>·</sup>  $p < 0,05$ ) vai ļoti vāju ( $r = -0,02$  ABTS<sup>·+</sup>  $p < 0,05$ ) korelāciju ar ArA.

Fenolu savienojumu saturs mārrutku lapās izrādīja vidēji ciešu ( $r = 0,56$  KFS  $p < 0,05$  un  $r = 0,54$  KFIS  $p < 0,01$ ) sakarību ar reducēšanas spēju. Šo pašu aktivitāti mārrutku saknēs nodrošina vairāki fenolu savienojumi, izņemot flavonoīdus, jo KFS bija vidēji cieša ( $r = 0,41$ ,  $p < 0,05$ ), bet KFIS – ļoti vāja un negatīva ( $r = -0,17$ ,  $p < 0,05$ ) korelācija. Mārrutku lapās un saknēs kā netiešie antioksidanti varētu darboties galluskābe ( $r = 0,45$ ,  $p < 0,05$ ).

Askorbīnskābe uzlabo rozmarīna ekstrakta AA taukos, darbojoties kā sinerģists (Naczka, Shahidi, 2003), kas ir saistīts ar 1. nodaļā jau skaidroto C vitamīna darbību arī augu ekstraktos. Mārrutku saknēs C vitamīns demonstrē ciešu ( $r = 0,74$ ,  $p < 0,01$ ) sakarību ar reducēšanas spēju.

Mārrutku bioloģiski aktīvajiem savienojumiem ir antioksidantu potenciāls, ko vajag padziļināti izpētīt.

### **3.1.2. Lupstāju nozīmīgāko bioloģiski aktīvo savienojumu un to antioksidatīvās aktivitātes izvērtējums /**

#### ***Assessment of lovage main bioactive compounds and their antioxidative activity***

**Fenolu savienojumi.** Tāpat kā mārrutkiem, arī lupstājiem ir redzams, ka KFS ietekmē auga nogatavošanās pakāpe, novākšanas laiks, un lielākais KFS lupstāju lapām tika konstatēts jūnijā, bet kātiem augustā (3.7. tab.).

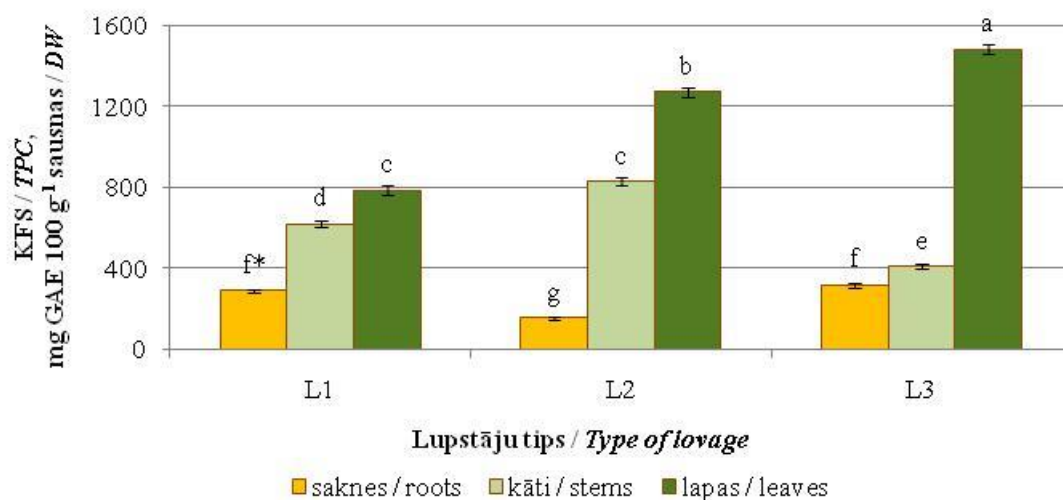
**KFS un KFIS lupstāju genotipa L4 kātos un lapās dažādos novākšanas laikos /  
TPC and TFC of lovage stems and leaves of genotype L4 by different harvest times**

Novākšanas laiks / harvest times	KFS / TPC, mg GAE 100 g <sup>-1</sup> sausnas / DW		KFIS / TFC, mg CE 100 g <sup>-1</sup> sausnas / DW	
	kātos / stems	lapās / leaves	kātos / stems	lapās / leaves
2011. gada jūnijs / In June 2011	468.20±8.82 <sup>b</sup>	1593.61±22.08 <sup>b</sup>	2012.03±28.82 <sup>b</sup>	2965.40±41.08 <sup>c</sup>
2011. gada jūlijs / In July 2011	205.16±6.69 <sup>a</sup>	1243.39±18.93 <sup>a</sup>	630.96±16.69 <sup>a</sup>	1582.24±26.04 <sup>a</sup>
2011. gada augusts / In August 2011	650.52±5.94 <sup>c</sup>	1535.84±20.94 <sup>c</sup>	622.10±15.94 <sup>a</sup>	2467.00±27.94 <sup>b</sup>

\* Dažādie burti vienā kolonnā apzīmē būtiski nozīmīgas atšķirības starp vērtībām (Tjūkija tests,  $p < 0,05$ ) /  
The different letters in the same column represents significant differences between values  
(Tukey's test,  $p < 0.05$ ).

Eksperimentu rezultāti parādīja, ka gan lapās, gan kātos, tos novācot jūlijā, bija vērojams KFS samazinājums, salīdzinot ar jūniju, ko var skaidrot ar pēcziedēšanas periodu (Raghavan, 2000). Savukārt jau augustā KFS palielinājās salīdzinājumā ar jūliju, kad vērojamas lielākas gaisa temperatūru svārstības, un tas saistīts ar klimatisko apstākļu ietekmi, precīzāk – ar nokrišņu daudzuma samazināšanos uz fenolu savienojumu saturu (Naczka, Shahidi, 2006).

Lupstajos tāpat kā mārutkos bija vērojama līdzīga tendence, ka lapās konstatēja lielāku KFS nekā citās auga daļās (3.7. att.).



**3.7. att. Kopējais fenolu saturs svaigos lupstajos /**

**Fig. 3.7. Total phenolic content of fresh lovage**

\* Vērtības, kas atzīmētas ar vienu un to pašu burtu, nav būtiski atšķirīgas savā starpā, ja  $p < 0,05$  /  
Mean values marked with the same letter do not differ significantly at  $p < 0.05$ .

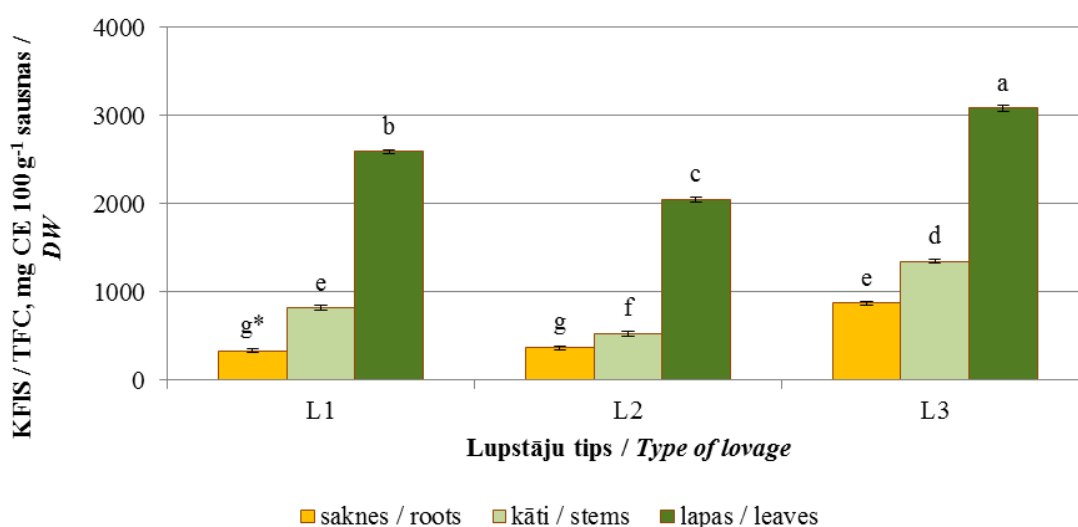
Lupstāju augu daļas pēc KFS varētu sarindot šādi (sākot ar vislielāko un beidzot ar vismazāko): lapas > kāti > saknes. Līdzīga iezīme vērojama arī *W. somnifera*, kur atsevišķās auga daļās bija atšķirīgs fenolu saturs, un šīs auga daļas pēc KFS tika sarindotas šādi: lapas > ziedi > augļi > kāti > saknes (Fernando et al., 2013). Visos

lupstāju genotipos bija vērojama kopīga iezīme, ka KFS kātos bija 2,22 reizes, bet saknēs 5,52 reizes mazāks nekā lapās.

Savukārt, salīdzinot savā starpā lupstāju lapas, visvairāk fenolu savienojumus satur genotips L4, starp kātiem – L2, bet saknēm – L1, līdz ar to nevar izdalīt vienu ar fenoliem visbagātāko lupstāja genotipu.

Lielākais KFIS, līdzīgi kā KFS, gan lupstāju lapām, gan kātiem tika konstatēts jūnijā (3.7. tab.). Līdzīgas svārstības lupstājiem dažādos novākšanas laikos bija vērojamas arī KFS. Lupstāju genotipa L4 kātos augustā KFS bija lielākais, bet KFIS bija vidējs, kas liek domāt, ka augustā lupstāju kātos veidojas (sintezējas) kādi fenolu savienojumi, kuri nav flavonoīdi.

Flavonoīdi – flavoni un flavonoli – ir stipri UV absorbētāji un pēc UV iedarbības uzkrājas galvenokārt epidermas šūnās (Gould, Lister, 2006), līdz ar to ārējās augu daļas, piemēram miza, parasti tiek raksturotas ar augstāku fenola saturu, salīdzinot ar mīkstumu (Nacz, Shahidi, 2004b). Tāpat kā KFS, arī KFIS visvairāk bija lupstāju lapās (3.8. att.).



### 3.8. att. Kopējais flavonoīdu saturs svaigos lupstājos /

**Fig. 3.8. Total flavonoid content of fresh lovage**

\* Vērtības, kas atzīmētas ar vienu un to pašu burtu, nav būtiski atšķirīgas savā starpā, ja  $p < 0,05$  / Mean values marked with the same letter do not differ significantly at  $p < 0.05$ .

KFIS visu lupstāju genotipu lapās bija vidēji 5,22 reizes vairāk nekā saknēs un 2,71 reizes vairāk nekā kātos. To var izskaidrot ar faktu, ka lapām ir ievērojami lielāks virsmas laukums, kas tiek pakļauts tiešai saules staru iedarbībai. Šie augu ārējo daļu audi satur UV gaismu absorbējošos flavonoīdus un citus fenolus (Nacz, Shahidi, 2003).

KFIS lupstājos demonstrēja pilnīgi citādas tendences nekā KFS. Lupstāju genotipa L1 lapās KFS bija viszemākais, bet KFIS – vidējs, savukārt genotipa L2 kātos KFS bija visaugstākais starp kātiem, kamēr KFIS bija viszemākais. Tajā pašā laikā genotipam L3 kātos tika konstatēts viszemākais KFS, bet KFIS bija vislielākais starp kātiem. Tas liek domāt, ka atsevišķos lupstāju genotipos un atsevišķās augu daļās vēl līdz ar flavonoīdiem ir citi fenolu klases savienojumi, bet atšķirīgā daudzumā. To apstiprina arī KFIS proporcija KFS, kur lielākais flavonoīdu īpatsvars bija lapās (0,28–0,38), bet mazākais – saknēs (0,07–0,24).

Atsevišķo fenolu savienojumu saturs. Pētījumos ir noteikts, ka lupstājos no identificētajiem fenolu savienojumiem nozīmīgākais ir kafijskābe (95,03 mg 100 g<sup>-1</sup> sausas)

un hlorogēnskābe (85,91 mg 100 g<sup>-1</sup> sausnas), kā arī rutīns (67,72 mg 100 g<sup>-1</sup> sausnas), pie kam lielākais to saturs konstatēts L3 genotipa kātos. Lupstāju genotipa L1 lapās visvairāk bija rutīns (55,46 mg 100 g<sup>-1</sup> sausnas), savukārt genotipa L3 saknēs – ferulskābe (56,82 mg 100 g<sup>-1</sup> sausnas), genotipa L1 saknēs – hlorogēnskābe (32,55 mg 100 g<sup>-1</sup> sausnas).

Atsevišķi fenolu savienojumi tika konstatēti tikai noteiktās augu daļās, tā piemēram, 4-hidroksibenzoskābe un katehīns gandrīz netika atrasti lupstāju lapās, bet rutīns – saknēs.

**C vitamīns.** Lupstāju saknēs C vitamīna saturs bija ievērojami zemāks nekā mārrutku saknēs un svārstījās robežās no 12,46 (L1) līdz 21,84 (L3) mg 100 g<sup>-1</sup> svaiga produkta vai no 18,98 (L1) līdz 40,32 (L3) mg 100 g<sup>-1</sup> sausnas.

**Lupstāju AA izvērtējums.** Daudzfaktoru dispersijas analīzes rezultāti parādīja, ka arī lupstājiem gan augu materiāls, gan novākšanas laiks ir būtiski faktori, kas ietekmē DPPH<sup>·</sup>, ABTS<sup>·+</sup> un reducēšanas spēju (p<0,05).

Lupstāju genotipa L4 lapas lielāko ArA demonstrēja augustā (3.8. tab.), kad KFS un KFIS bija tuvu savam lielākajam daudzumam. Arī lupstāju kātiem pēc DPPH<sup>·</sup> metodes vislielāko aktivitāti konstatēja augustā, tāpat kā KFS, bet pēc ABTS<sup>·+</sup> metodes – jūnijā, tāpat kā KFIS.

3.8. tabula / Table 3.8

**Lupstāju genotipa L4 lapu un kātu AA dažādos novākšanas laikos / Antioxidant activity of lovage leaves and stems of genotype L4 by different harvest times**

	Parametri / Parameters	2013. gada jūnijs / In June 2013	2013. gada jūlijs / In July 2013	2013. gada augusts / In August 2013
Kāti / Stems	DPPH <sup>·</sup> *	35.39±1.37 <sup>b***</sup>	27.66±1.09 <sup>a</sup>	178.55±3.37 <sup>c</sup>
	ABTS <sup>·+</sup> *	54.13±1.69 <sup>b</sup>	32.59±1.26 <sup>a</sup>	182.06±2.61 <sup>c</sup>
	RS / RP **	7211.26±55.39 <sup>b</sup>	6626.49±60.99 <sup>a</sup>	45595.71±99.31 <sup>c</sup>
Lapas / Leaves	DPPH <sup>·</sup> *	10.90±0.90 <sup>a</sup>	20.85±1.08 <sup>b</sup>	126.12±2.33 <sup>c</sup>
	ABTS <sup>·+</sup> *	98.66±2.59 <sup>b</sup>	74.04±3.01 <sup>a</sup>	125.51±2.06 <sup>c</sup>
	RS / RP **	21225.22±76.05 <sup>a</sup>	28949.20±80.27 <sup>c</sup>	27007.50±81.73 <sup>b</sup>

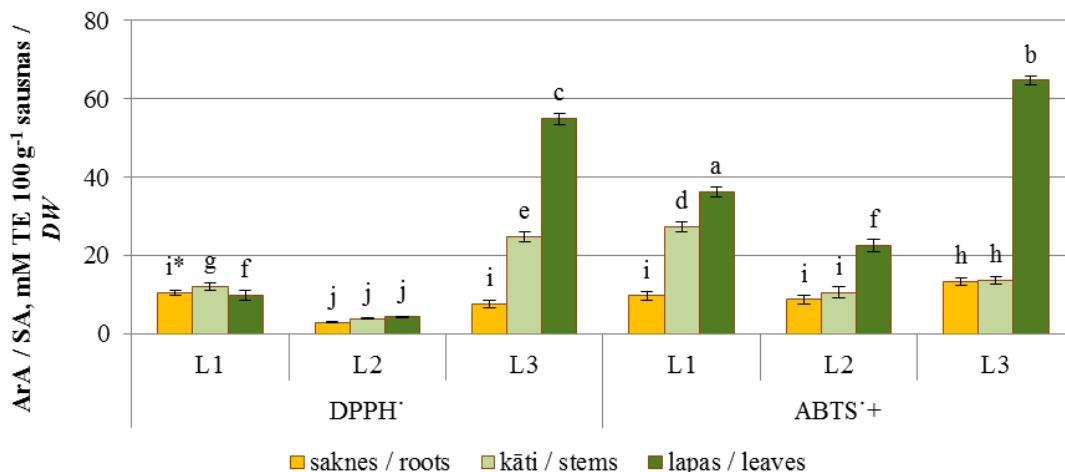
\* mM TE 100 g<sup>-1</sup> sausnas / DW; \*\* mg AAE 100 g<sup>-1</sup> sausnas / DW

\*\*\* Dažādie burti vienā rindā apzīmē būtiski nozīmīgas atšķirības starp vērtībām (Tjūkija tests, p<0,05) / The different letters in the same column represents significant differences between values (Tukey's test, p<0.05).

ArA visiem pētītajiem lupstāju genotipiem pēc abām noteikšanas metodēm skaitliski atšķīrās (3.9. att.), bet bija vienāda iezīme, ka genotipam ar augstāko ArA lapās tā nebūt nav arī augstākā saknēm vai kātos. Izņēmums bija genotips L2, kur tā paraugi demonstrēja vismazāko aktivitāti gan starp saknēm, gan kātiem, gan arī lapām ar abām metodēm.

Starp lupstājiem lielāko ArA konstatēja lapās (3.10. att.), kas svārstījās no 4,32 līdz 54,98 mM TE 100 g<sup>-1</sup> sausnas (DPPH<sup>·</sup>) un 22,54–74,46 mM TE 100 g<sup>-1</sup> sausnas (ABTS<sup>·+</sup>), kamēr kātos šī aktivitāte bija 1,50–2,42 reizes, bet saknēs 3,60–5,39 reizes mazāka. Pētītos lupstājus pēc to ArA var sarindot tā pat kā KFS un KFIS (sākot ar visaktīvāko un beidzot ar visneaktīvāko): lapas > kāti > saknes.

Eksperimentos tika konstatēts, ka arī reducēšanas spēja ir atkarīga no augu novākšanas laika (3.8. tab.). Savu maksimumu šī aktivitāte lupstāju kātiem sasniedz augustā, kas saskan ar KFS augstāko rezultātu un KFIS zemāko rezultātu. Tas liek domāt, ka šo aktivitāti lupstāju kātos nodrošina fenolu savienojumi, kuri nepieder flavonoīdiem, piemēram, fenolskābes. Tajā pašā laikā lupstāju lapas augstāko reducēšanas spēju sasniedz jūlijā, kad KFS un KFIS ir viszemākais. Šis apstāklis liek domāt, ka arī lupstāju lapās kā reducētāji darbojas fenolskābes.

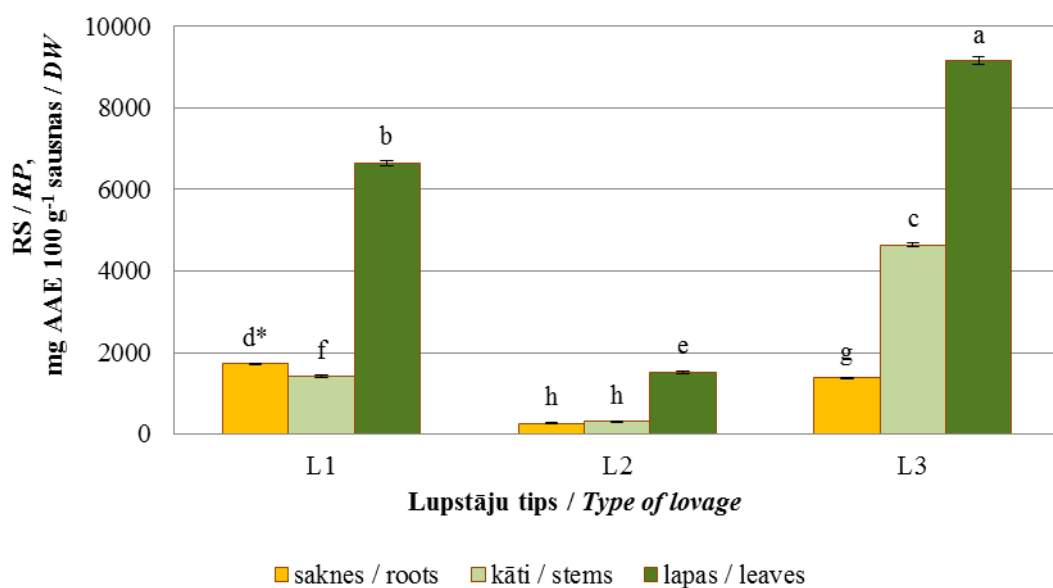


**3.9. att. Lupstāju antiradikālā aktivitāte pēc DPPH• un ABTS•+ dažādās auga daļās /**

**Fig. 3.9. Scavenging activity of lovage by DPPH• and ABTS•+, depending on the parts of the plant**

\* Vērtības, kas atzīmētas ar vienu un to pašu burtu, nav būtiski atšķirīgas savā starpā, ja  $p < 0,05$  / Mean values marked with the same letter do not differ significantly at  $p < 0.05$ .

Lupstāju paraugos visiem genotipiem vislielākā reducēšanas spēja bija lapām (3.10. att.), bet vismazākā saknēm. Tas ir likumsakarīgi, jo arī KFS un KFIS bija tāds pats ranžējums.



**3.10. att. Reducēšanas spēja dažādās lupstāju auga daļās /**

**Fig. 3.10. Reducing power of lovage depending on the parts of the plant**

\* Vērtības, kas atzīmētas ar vienu un to pašu burtu, nav būtiski atšķirīgas savā starpā, ja  $p < 0,05$  / Mean values marked with the same letter do not differ significantly at  $p < 0.05$ .

**Sakarības starp lupstāju bioloģiski aktīvajiem savienojumiem un AA.** Visiem lupstāju paraugiem tika konstatēta vidēji cieša korelācija starp KFS un KFIS, pie kam lupstāju kātiem šī sakarība bija negatīva. Lupstāju kātos bija vērojama ļoti cieša sakarība starp KFIS un rutīnu ( $r = 0,96$ ,  $p < 0,05$ ), kā arī katehīnu ( $r = 0,92$ ,  $p < 0,05$ ).

Par flavonoīdu AA liecina arī lupstāju lapām konstatētā ciešā korelācija starp KFS un ArA (attiecīgi  $r = 0,92$  DPPH<sup>·</sup> un  $r = 0,82$  ABTS<sup>·+</sup>,  $p < 0,05$ ), kamēr sakarība ar KFS un ArA bija tikai vidēja ( $r = 0,46$  DPPH<sup>·</sup>,  $p < 0,05$ ). No atsevišķajiem fenolu savienojumiem lupstāju saknēm ļoti cieša korelācija bija vērojama starp ABTS<sup>·+</sup> un epikatehīnu ( $r = 0,99$ ,  $p < 0,05$ ), kumarīnu ( $r = 0,94$ ,  $p < 0,05$ ) un ferulskābi ( $r = 0,94$ ,  $p < 0,05$ ), bet lupstāju kātiem ļoti ciešu korelāciju varēja vērot starp DPPH<sup>·</sup> un kumarīnskābi ( $r = 0,97$ ,  $p < 0,05$ ). Lupstāju saknēs C vitamīnam bija ļoti vāja negatīva ( $r = -0,07$ , DPPH<sup>·</sup>  $p < 0,05$ ) korelācija ar tiešo AA, kas liek domāt, ka C vitamīns iespējams, darbojas kā sinerģists, arī ar netiešo AA bija ļoti vāja ( $r = 0,003$ ,  $p < 0,05$ ), bet to var skaidrot arī ar jodometriskās metodes neprecizitāti.

Lupstāju saknēm ļoti ciešā pozitīvā korelācija starp KFS ( $r = 0,92$ ,  $p < 0,05$ ) un netiešo AA liecina, ka šo AA nodrošina fenolu savienojumi, kuri nepieder flavonoīdu grupai, jo KFS ir vāja sakarība ( $r = 0,23$ ,  $p < 0,05$ ) ar šo AA. Arī no fenoliem vidēji cieša sakarība vērojama ar hlorogēnskābi ( $r = 0,54$ ,  $p < 0,05$ ). Pilnīgi pretēji rezultāti vērojami lupstāju kātiem, un ļoti ciešu pozitīvu korelāciju ( $r = 0,995$ ,  $p < 0,01$ ) demonstrēja KFS ar netiešo AA, kas ļauj prognozēt, ka šajā augu materiālā tieši flavonoīdi darbojas kā netiešie antioksidanti. Iegūtajos rezultātos bija vērojama ļoti cieša sakarība starp netiešo AA un atsevišķo fenolu savienojumu saturu, kā 4-hidroksibenzoskābe ( $r = 0,97$ ,  $p < 0,05$ ), rutīnu ( $r = 0,99$ ,  $p < 0,05$ ), katehīnu ( $r = 0,96$ ,  $p < 0,05$ ), kafijskābi ( $r = 0,97$ ,  $p < 0,05$ ), sinirgēnskābi ( $r = 0,96$ ,  $p < 0,05$ ), hlorogēnskābi ( $r = 0,95$ ,  $p < 0,05$ ) un ferulskābi ( $r = 0,98$ ,  $p < 0,05$ ). Savukārt lupstāju lapas demonstrēja vidēji ciešu ( $r = 0,73$ ,  $p < 0,05$ ) korelāciju starp tiešo antioksidantu aktivitāti un KFS.

### 3.1. nodaļas kopsavilkums

Izvērtējot svaigu mārrutku lapu un sakņu, kā arī lupstāju lapu, kātu un sakņu ķīmiskos rādītājus, ir noteikts, ka starp pētāmo augu paraugu ķīmisko sastāvu ir būtiskas atšķirības visos pētītajos parametros. Eksperimentāli pierādīts, ka mārrutku un lupstāju ķīmisko sastāvu būtiski ( $p < 0,05$ ) ietekmē genotips, auga daļa, kā arī novākšanas laiks. Eksperimentu laikā bija vērojams, ka katrs analizētais augu materiāls izrādīja tendenci demonstrēt maksimālos rādītājus dažādos novākšanas laikos (3.9. tab.).

3.9. tabula / Table 3.9

#### Mārrutku un lupstāju piemērotākais novākšanas laiks maksimālo rādītāju iegūšanai / *Appropriate harvest time of horseradish and lovage to obtain the maximum performance* (2011. gads / year)

Parametri / Params	Mārrutki / <i>Horseradish</i>		Lupstāji / <i>Lovage</i>	
	Saknes / <i>Roots</i>	Lapas / <i>Leaves</i>	Kāti / <i>Stems</i>	Lapas / <i>Leaves</i>
KFS / <i>TPC</i>	Septembrī / <i>September</i>	Jūnijā / <i>June</i>	Augustā / <i>August</i>	Jūnijā / <i>June</i>
KFIS / <i>TFC</i>	n.a.	Jūnijā / <i>June</i>	Jūnijā / <i>June</i>	Jūnijā / <i>June</i>
ArA / <i>SA</i>	Augustā / <i>August</i>	Jūnijā / <i>June</i>	Augustā / <i>August</i>	Augustā / <i>August</i>
RS / <i>RP</i>	n.a.	Septembrī / <i>September</i>	Augustā / <i>August</i>	Jūlijā / <i>July</i>

n.a. – nav analizēts / *not analysed*

Izmantojot spektrofotometriskās metodes, lielākais KFS un KFIS tika konstatēts mārrutku lapās. Eksperimentāli pierādīts, ka starp visiem analizētajiem augu materiāliem mārrutku genotipa G12B lapās ir vislielākais KFS un KFIS. Savukārt vismazākais KFS bija mārrutku genotipa GM saknēs, bet KFIS – mārrutku genotipa G105 saknēs.



Vislielākais atsevišķo fenolu saturs tika konstatēts lupstāju genotipa L3 kātos, kur kafijskābe bija  $95,03 \pm 0,18$  mg  $100 \text{ g}^{-1}$  sausnas, hlorogēnskābe –  $85,91 \pm 0,16$  mg  $100 \text{ g}^{-1}$  sausnas un rutīns  $67,72 \pm 0,11$  mg  $100 \text{ g}^{-1}$  sausnas. Lupstāju lapās gandrīz netika atrasti 4-hidroksibenzoskābe un katehīns, lupstāju saknēs – rutīns.

Eksperimentos noteiktais C vitamīna saturs mārrutku saknēs bija ievērojami lielāks nekā lupstāju paraugos. Arī dažādu mārrutku genotipu saknēs tas būtiski svārstījās no  $71,10$  mg  $100 \text{ g}^{-1}$  sausnas līdz  $344,93$  mg  $100 \text{ g}^{-1}$  sausnas, attiecīgi mārrutku genotipu G26B un GM saknēs.

Galvenais gaistošais savienojums visos mārrutku paraugos bija AITC, kas veidoja 64–82% kopējo identificēto gaistošo savienojumu.

Lielākā AA eksperimentos tika konstatēta lupstāju genotipa L4 kātos. Savukārt viszemākā ArA bija mārrutku genotipa GM saknēs, bet reducēšanas spēja tika konstatēta lupstāju genotipa L2 saknēs. Lupstāju genotipam L2 iezīmējās tendence, ka gan saknēs, gan kātos, gan arī lapās ir mazākā reducēšanas spēja.

Analizējot datu kopumu no 5 mainīgajiem (KFS, KFIS, ArA un reducēšanas spēju) un 36 augu materiāliem, hierarhiskā klasteru analīze parādīja, ka rezultātā mārrutkulapu un sakņu un lupstāju sakņu, kātu un lapu paraugus pēc fenolu savienojumu satura un to AA var iedalīt 8 klasteros (3.10. tab.).

3.10. tabula / Table 3.10

**Dažādu genotipu mārrutku un lupstāju sadalījums klasteros pēc fenolu savienojumu satura un AA / Distribution of different genotypes of horseradish and lovage in clusters by content of phenolic compounds and AA**

Klasteri / Cluster	Augu materiāls / Plant material	Vidējās vērtības klasteros / The average value of clusters				
		KFS / TPC, mg GAE $100 \text{ g}^{-1}$ sausnas / DW	KFIS / TFC, mg CE $100 \text{ g}^{-1}$ sausnas / DW	DPPH, mM TE $100 \text{ g}^{-1}$ sausnas / DW	ABTS, mM TE $100 \text{ g}^{-1}$ sausnas / DW	RS / RP, mg AAE $100 \text{ g}^{-1}$ sausnas / DW
1	* Mārrutku saknes L1_saknes, L1_kāti, L2_saknes, L2_kāti, L2_lapas, L3_saknes, L3_kāti, L4_saknes, L4_kāti	372.60	564.41	9.81	9.48	2242.08
2	G1_lapas, G3_lapas, G26B_lapas	3407.04	10275.96	61.33	55.53	6184.26
3	G2_lapas, G12B_lapas	4918.72	14374.86	73.84	78.01	23947.42
4	G104_lapas, G281_lapas, GM_lapas	3564.70	10072.23	73.06	57.61	23848.40
5	G105_lapas, G106_lapas, G280_lapas	2116.13	5510.26	65.77	25.40	5542.92
6	GJ_lapas, L4_lapas	1152.25	2725.60	30.09	72.24	24704.43
7	L1_lapas	784.30	2591.12	19.78	74.46	6643.20
8	L3_lapas	1481.64	3083.58	54.98	64.70	9152.60

\*Mārrutku genotipu G1, G2, G3, G12B, G26B, G104, G105, G106, G280, G281, GM, GJ saknes / Roots of horseradish genotypes.

Trešajā klasterī ir apvienoti augu paraugi ar lielāko KFS, KFIS un ArA, sestajā klasterī – ar lielāko reducēšanas spēju, savukārt pirmajā klasterī ir apvienoti analizētie paraugi ar zemākajiem parametriem.

Gan mārrutki, gan lupstāji satur bioloģiski aktīvas vielas ar antioksidatīvām īpašībām, kuras varētu būt kā potenciāli sintētisko antioksidantu aizvietoājā. Tādēļ ir

nepieciešams izpētīt šo savienojumu stabilitāti, ekstrakcijas iespējas un ietekmējošos faktoros maksimālai ekstraktu aktivitātes saglabāšanai.

### ***Summary of Chapter 3.1.***

*By assessing the chemical indicators of fresh horseradish leaves and roots, as well as lovage leaves, stems and roots, it has been determined that there are significant differences between the chemical composition of the examined plants in all examined parameters. It has been experimentally proven that the chemical composition of horseradish and lovage is significantly ( $p < 0.05$ ) affected by the genotype, the part of the plant, as well as the harvest time. During the experiments, it was observed that each analyzed plant material showed a tendency of manifesting the maximum indicators at different harvesting times (Table 3.9).*

*By using spectrophotometric methods, the greatest KFS and KFIS were found in horseradish leaves. It was experimentally proven that, among all analyzed plant materials, horseradish genotype G12B leaves have the greatest KFS and KFIS. The lowest KFS was in horseradish genotype GM roots; the lowest KFIS – in horseradish genotype G105 roots.*

*The greatest content of individual phenols was found in lovage genotype L3 stems, where the amount of caffeic acid was  $95.03 \pm 0.18 \text{ mg } 100 \text{ g}^{-1} \text{ DW}$ , chlorogenic acid –  $85.91 \pm 0.16 \text{ mg } 100 \text{ g}^{-1} \text{ DW}$ , and rutin  $67.72 \pm 0.11 \text{ mg } 100 \text{ g}^{-1} \text{ DW}$ . There was practically no 4-hydroxybenzoic acid and catechin found in lovage leaves, and no rutin in lovage roots.*

*The experimentally determined Vitamin C content in horseradish roots was significantly greater than in the lovage samples. In roots of various horseradish genotypes it also significantly varied from  $71.10 \text{ mg } 100 \text{ g}^{-1} \text{ DW}$  to  $344.93 \text{ mg } 100 \text{ g}^{-1} \text{ DW}$ , respectively, in horseradish genotype G26B and GM roots.*

*The main volatile compound in all horseradish samples was AITC, which formed 64–82% of the total identified volatile compounds.*

*The greatest AA in experiments was found in lovage genotype L4 stems. The lowest ArA was found in horseradish genotype GM roots, while reducing power was found only in lovage genotype L2 roots. For lovage genotype L2, there is a tendency of both roots and stems and leaves having the lowest reducing power.*

*By analyzing an aggregate of data from 5 variables (KFS, KFIS, ArA and reducing power) and 36 plant materials, hierarchical cluster analysis showed how horseradish leave and root and lovage root, stem and leave samples in terms of the content of phenolic compounds and their AA can be divided into 8 clusters (Table 3.10).*

*The third cluster unites plant samples with the greatest KFS, KFIS and ArA, the sixth cluster – ones with the greatest reducing power; the first cluster unites the analyzed samples with the lowest parameters.*

*Both horseradish and lovage contain biologically active substances with antioxidative properties, which may serve as potential substitutes of synthetic antioxidants. Therefore it is necessary to research the stability of these compounds, extraction possibilities and impact factors for maximum preservation of extract activity.*

### **3.2. Bioloģiski aktīvo savienojumu satura un antioksidantu aktivitātes izmaiņas mārrotkos un lupstajos tehnoloģisko procesu ietekmē /** *Comparison of biologically active compounds of horseradish and lovage, and assessment of their antioxidative activity affected by treatment*

Garšaugus un dārzeņus nav iespējams ilgstoši saglabāt svaigus, tādēļ tiek izmantotas aukstuma kameras. Bet arī šāds uzglabāšanas veids nevar nodrošināt svaigus augus visa gada garumā, jo īpaši lapas un kātus. Lai varētu tos izmantot neatkarīgi no sezonālītātes, tiek lietotas dažādas apstrādes tehnoloģijas – saldēšana vai kaltēšana. Literatūras dati liecina, ka kaltēšana un saldēšana ietekmē bioloģiski aktīvo savienojumu saturu un AA augos (Pinelo et al., 2004; Chan et al., 2009; Siriamornpun et al., 2012; Chan et al., 2013). Tāpēc veikti pētījumi par šo savienojumu izmaiņām mārrotkos un lupstajos apstrādes rezultātā, un, analizējot eksperimentāli iegūtos rezultātus, darbā veikts kaltētu un saldētu mārrotku un lupstāju galveno bioloģiski aktīvo savienojumu izvērtējums un to salīdzināšana ar svaigiem paraugiem.

#### **3.2.1. Konvencionālo apstrādes veidu ietekmes izvērtējums /** *Assessment of effect of conventional type of treatment.*

Izplatītāki ir tradicionālie jeb konvencionālie apstrādes veidi, kurus iespējams realizēt ikvienam arī nelielā ražošanā. Promocijas darbā konvencionālo apstrādes veidu ietekme tika analizēta mārrotku lapām un lupstāju lapām un kātiem. Kā viens no šādiem apstrādes veidiem tika izvēlēta saldēšana, sasaldējot augu materiālus un uzglabājot  $-18\text{ }^{\circ}\text{C}$ , otrs – kaltēšana tumsā istabas temperatūrā bez papildu gaisa cirkulācijas līdz noteiktam produkta mitrumam.

Promocijas darbā konvencionālo apstrādes veidu ietekme tika analizēta mārrotku genotipa GJ lapām un lupstāju genotipa L1 lapām un kātiem, kuriem veikts fenolu savienojumu satura un to AA izvērtējums.

**Fenolu savienojumi.** Apstrādes veida ietekme uz KFS un KFIS izmaiņām mārrotku lapās, kā arī lupstāja lapās un kātos parādīta 3.11. tabulā.

Daudzfaktoru dispersijas analīzes rezultāti parādīja, ka gan apstrādes veids, gan arī augu materiāls ir nozīmīgi faktori, kas ietekmē fenolu un flavonoīdu saturu ( $p < 0,05$ ). Pētījumos konstatēts, ka būtiski vairāk fenolu savienojumu satur mārrotku lapas salīdzinājumā ar lupstāju kātiem un lapām (3.1., 3.5., 3.16. un 3.18. att.).

Tehnoloģiskie procesi dažādi ietekmē fenolu savienojumu saturu (Pinelo et al., 2004). Fenolu savienojumu izmaiņu tendences tehnoloģisko procesu ietekmē visiem analizētajiem augu paraugiem bija līdzīgas. Vērojams, ka visos augu izejmateriālos, tos saldējot, fenolu savienojumu saturs palielinās. Pie kam lupstāju kātos tos saldējot, KFS palielinās par 20%, kas ir vislielākais starp pētītajiem augiem, bet mārrotku lapās par 15%, salīdzinot saldētus un svaigus augus. Savukārt saldētās lupstāju lapās KFIS palielinājās par 33%, salīdzinot ar svaigām lapām. Tas varētu būt skaidrojams ar bioloģiski aktīvo savienojumu hidrolīzi, kā rezultātā fenolu savienojumi tiek atšķelti no kompleksiem savienojumiem.

Līdzīgi eksperimentos iegūtajiem rezultātiem, pazeminātas temperatūras ietekmē KFS palielinās arī saldētā Filipīnu vaska puķē (*Etilingera elatior* L.) un zīdkoka tējas lapās (*Morus alba* L.) (Chan et al., 2013). Savukārt pretējs efekts ir konstatēts kliņģerītēs, kurās pēc saldēšanas gan KFS, gan arī KFIS nedaudz samazinās (Siriamornpun et al., 2012). Saldēšanas laikā nenotiek termiskā degradācija

(Chan et al., 2009), bet ledus kristāli, veidojoties augu matricā, var sagraut šūnu struktūru, rezultātā sadalot kompleksos savienojumus un atbrīvojot fenolu savienojumus (Almulla et al., 2003).

3.11. tabula / Table 3.11

**KFS un KFIS mārrotku lapās, lupstāju lapās un kātos apstrādes veida ietekmē /  
TPC and TFC in horseradish leaves, lovage leaves and stems, depending on the  
type of treatment**

Augu materiāls / Plant material	Apstrādes veids / Type of treatment	KFS / TPC, mg GAE 100 g <sup>-1</sup> sausnas / DW	KFIS / TFC, mg CE 100 g <sup>-1</sup> sausnas / DW	KFIS:KFS / TFC:TPC
Mārrotku lapas / Horseradish leaves	Svaigs / Fresh	2368.48±2.03 <sup>b*</sup>	5889.85±6.02 <sup>b</sup>	0.63
	Saldēts / Frozen	2722.13±2.03 <sup>a</sup>	6178.03±6.27 <sup>a</sup>	0.83
	Kaltēts / Dried	123.60±0.17 <sup>b</sup>	287.79±0.28 <sup>h</sup>	0.17
Lupstāju lapas / Lovage leaves	Svaigs / Fresh	1593.61±1.09 <sup>d</sup>	2965.40±2.69 <sup>d</sup>	0.29
	Saldēts / Frozen	1601.87±1.47 <sup>c</sup>	3548.33±3.08 <sup>c</sup>	0.71
	Kaltēts / Dried	359.75±0.37 <sup>g</sup>	551.01±0.55 <sup>g</sup>	0.18
Lupstāju kāti / Lovage stems	Svaigs / Fresh	381.15±0.39 <sup>f</sup>	1208.18±1.83 <sup>f</sup>	0.50
	Saldēts / Frozen	458.03±0.40 <sup>e</sup>	1259.94±1.51 <sup>e</sup>	0.34
	Kaltēts / Dried	44.83±0.07 <sup>i</sup>	184.04±0.14 <sup>i</sup>	0.47

\* Dažādie burti vienā kolonnā apzīmē būtiski nozīmīgas atšķirības starp vērtībām (Tjūkija tests,  $p < 0,05$ ) / The different letters in the same column represents significant differences between values (Tukey's test,  $p < 0.05$ ).

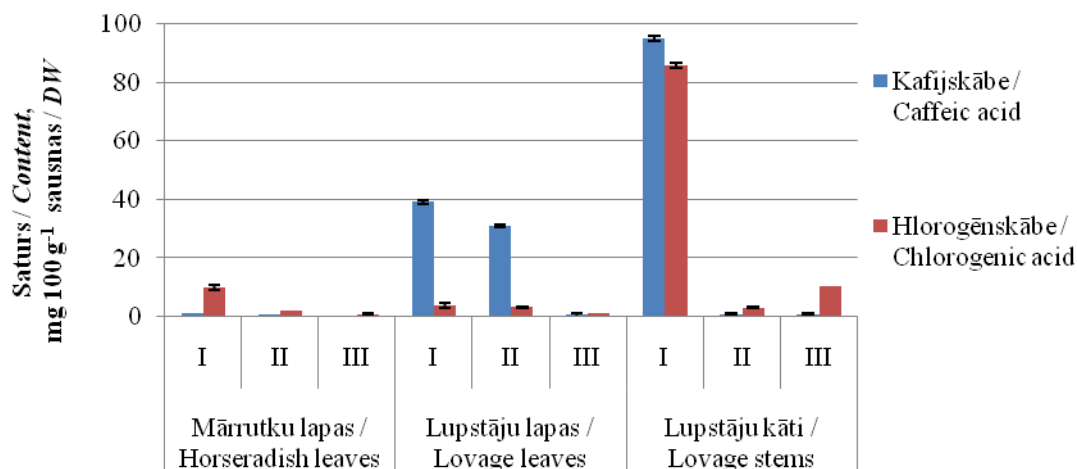
Savukārt kaltēšana padara augu audus trauslus, un tas izraisa strauju šūnapvalku sagraušanu un paātrina fermentu darbību (Hossain et al., 2010). Aktīvo fermentu izdalīšanās var izraisīt saistīto fenolu savienojumu atbrīvošanos. Acīmredzot šie savienojumi ir termonestabili, un paaugstinātas temperatūras ietekmē samazinās fenolu savienojumu saturs. Konvektīvās kaltēšanas rezultātā visos pētītajos paraugos būtiski samazinājās fenolu savienojumu saturs, salīdzinot ar svaigiem un saldētiem paraugiem. Pēc kaltēšanas lupstāju lapu paraugos KFS samazinājās 4,43 reizes, bet KFIS – 5,38, salīdzinot ar svaigām lupstāju lapām.

Rezultāti parādīja, ka abas apstrādes metodes rada ievērojami atšķirīgus rezultātus. Vairāki pētnieki ziņo, ka kaltējot samazinās fenolu savienojumu saturs, tā, piemēram, olīvu lapās samazinās KFS (Erbay, Icier, 2009), bazilika lapās – KFIS (Miean, Mohamed, 2001), kas ir līdzīgi šajā pētījumā iegūtajiem rezultātiem. Savukārt apstrādājot pazeminātā temperatūrā, šis izmaiņas ir atkarīgas pat no augu sugas, klona vai genotipa (Chan et al., 2009; Ahmad-Qasem et al., 2013).

KFIS un KFS proporcijā pētītajos augos konstatētas svārstības, kas ir līdzīgas D. Marina (2005) un kolēģu konstatētajām (0,07–0,78). Vislielākais flavonoīdu īpatsvars vērojams saldētās mārrotku un lupstāju lapās, bet vismazākais kaltētās mārrotku un lupstāju lapās. Tādējādi var prognozēt, ka saldēšanas rezultātā tiek atbrīvoti flavonoīdi, kuri svaigās mārrotku un lupstāju lapās ir saistīti kompleksos ar citiem savienojumiem, bet kaltējot šie flavonoīdi degradējas.

Atsevišķo fenolu savienojumu saturs. Fenola savienojumi var atšķirties cits no cita pēc to saistīšanās veida, atkarībā no to ķīmisko struktūru specifiskajiem aspektiem. Tādējādi apstrādes procesu efektivitāte var atšķirties, izdalot fenolskābes no augu audiem (Chism, Haard, 1996). Gan kaltēšanas, gan saldēšanas rezultātā eksperimentos konstatēts visu atsevišķo fenolu savienojumu satura samazinājums (3.11. un 3.12. att., 3.12. tab.). Saldēšanas rezultātā lupstāju lapās kafijskābes saturs samazinājās tikai par

21%, hlorogēnskābes saturs par 14%, kamēr lupstāju kātos kafijskābes saturs samazinājās pat 130 reizes, hlorogēnskābes saturs 26 reizes (3.11. att.).

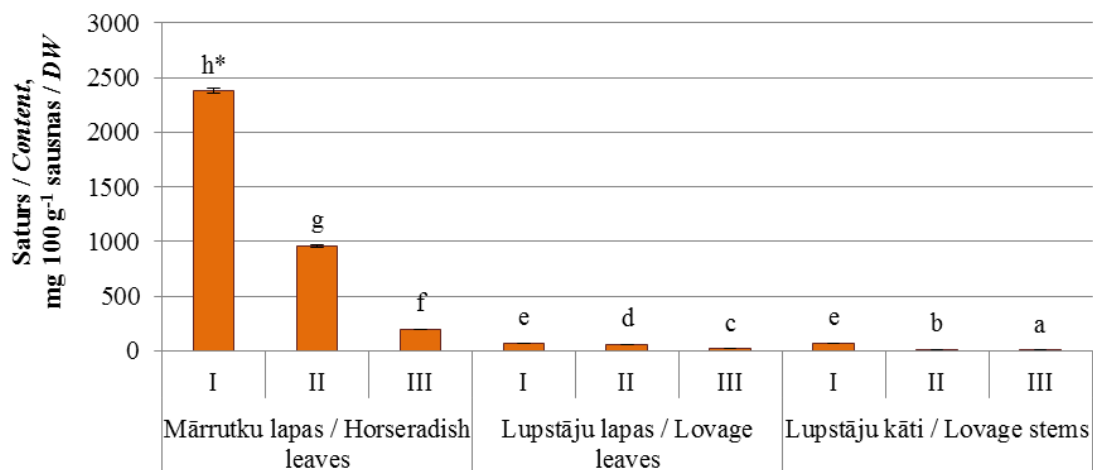


### 3.11. att. Kafijskābes un hlorogēnskābes izmaiņas konvencionālo apstrādes procesu ietekmē /

**Fig. 3.11. Changes of caffeic acid and chlorogenic acid content as a result of the conventional methods of treatment**

I – svaigs / fresh; II – saldēts / freeze; III – kaltēts / dried.

Šo atsevišķo fenolu savienojumu satura samazinājums saldēšanas ietekmē ir pretējs KFS rezultātiem.



### 3.12. att. Rutīna izmaiņas konvencionālo apstrādes procesu ietekmē /

**Fig. 3.12. Changes of rutin content as a result of the conventional methods of treatment**

I – svaigs / fresh; II – saldēts / freeze; III – kaltēts / dried

\* Vērtības, kas atzīmētas ar vienu un to pašu burtu, nav būtiski atšķirīgas savā starpā, ja  $p < 0,05$  / The different letters represents significant differences between values ( $p < 0.05$ ).

KFS noteikšanā tika izmantots Folin-Ciocalteu reaģents, un pastāv varbūtība, ka ar šo vielu reaģē ne tikai fenolu savienojumi, bet arī aminoskābes, ogļhidrāti, askorbīnskābe un citas bioloģiski aktīvas vielas, kas var mijiedarboties ar šo reaģentu.

Savukārt atsevišķo fenolu savienojumu noteikšanai izmantota šķidrums hromatogrāfijas metode. Tā kā šīs abas metodes ir atšķirīgas, katra ar savām priekšrocībām un trūkumiem, arī veikto analīžu rezultātos vērojamas dažādas iezīmes, par ko ir arī sastopami dati literatūrā (Kim, Wampler, 2011).

Termiskās apstrādes ietekmē var atbrīvoties vairāk saistītās fenolskābes, sašķeļot šūnu sastāvdaļas. Savukārt dārzeņos un augļos, sagraujot šūnu sienīgas, tiek atbrīvoti oksidācijas un hidrolīzes fermenti, kas var iznīcināt augos esošos antioksidantus (Chism, Haard, 1996). Tādējādi kaltējot lupstāju kātos kafijskābes saturs samazinājās 94 reizes.

Visos analizētajos paraugos tika konstatēts rutīns, kas lielākos daudzumos bija atrasts svaigās mārrutku lapās, salīdzinot ar pārējiem paraugiem (3.12. att.). Arī kliņģerītēs rutīns ir galvenais flavonoīds (Siriamornpun et al., 2012), kuram piemīt daudz pozitīvu īpašību (Kayashita et al., 1997; Kuntić et al., 2007; Tobin et al., 2011).

Vismazākie rutīna zudumi bija lupstāju lapās pēc saldēšanas (1,17 reizes), bet vislielākais rutīna samazinājums konstatēts lupstāju kātos (8,04 reizes) un mārrutku lapās (2,49 reizes). Turpretī hara lapās esošais rutīns labākus rezultātus uzrādīja istabas temperatūrā kaltētos paraugos, salīdzinot ar saldētiem (Lin et al., 2012). Savukārt kaltēšanas rezultātā mazākie rutīna zudumi bija lupstāju lapās, kur tas samazinājās 4,27 reizes, bet lielākais lupstāju kātos – 21,99 reizes.

Vienīgi sinapīnskābe lupstāju kātos bija atrasta lielākā daudzumā kaltētā paraugā (3.12. tab.), salīdzinot ar svaigu un saldētu paraugu. Atsevišķi fenolu savienojumi izrādīja dažādas tendences, atšķirīgi reaģējot atkarībā no apstrādes veida. Rozmarīna lapās gan saldējot, gan kaltējot samazinās rozmarīnskābes (pieder pie hidroksikanēļskābēm) saturs, savukārt karnozolskābe pēc tādiem pašiem apstrādes apstākļiem uzrādīja satura palielinājumu (Mulinaccia et al., 2011). Neraugoties uz to, ka kafijskābe un ferulskābe pieder pie hidroksikanēļskābēm, tās dažādu temperatūru ietekmē reaģē dažādi. Hara lapās esošās kafijskābes saturs pēc saldēšanas ir ievērojami lielāks nekā istabas temperatūrā kaltētos paraugos, bet ferulskābe reaģē pilnīgi pretēji (Lin et al., 2012). Daži autori novērojuši fenolskābju satura samazināšanos kaltēšanas ietekmē, un tas galvenokārt skaidrojams ar fermentatīvo oksidēšanos (Del Caro et al., 2004). Literatūrā ir atrodami arī ziņojumi par strauju fenolu savienojumu degradēšanos pēc augu materiāla pakļaušanas paaugstinātu temperatūru un gaisa skābekļa ietekmei (Iguar et al., 2012). Spānijas zinātnieku grupa pētījumos par sarkanajiem sīpoliem novēroja, ka atsevišķu flavonoīdu saturs, saldējot ar oglekļa dioksīdu un vēlāk uzglabājot  $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ , samazinās pat par 24% (Pérez-Gregorio et al., 2011). Arī rozmarīna lapās esošo flavonoīdu saturs gan saldēšanas, gan arī kaltēšanas ietekmē samazinās (Mulinaccia et al., 2011).

Analizējot 3.11. un 3.12. tabulu un 3.11. un 3.12. attēlu, domājams, ka mārrutku un lupstāju lapas līdz ar rutīnu satur arī citus flavonoīdus, kuri saldēšanas rezultātā atšķelas no kompleksiem savienojumiem, kā rezultātā vērojams KFS un KFIS palielinājums saldētos paraugos.

3.12. tabula / Table 3.12

**Atsevišķu fenolu saturs mārrutku lapās, lupstāju lapās un kātos atkarībā no apstrādes veida / Content of individual phenols in horseradish leaves, lovage leaves and stems depending on treatment, mg 100 g<sup>-1</sup> sausnas / DW**

Augu materiāls / Plant material	Apstrādes veids / Type of treatment	Katehīns / Catechin	Kumarīnskābe / Coumaric acid	Sinapīnskābe / Sinapic acid	Ferulskābe / Ferulic acid
Mārrutku lapas / Horseradish leaves	Svaigs / Fresh	3.19±0.72 <sup>c*</sup>	1.14±0.09 <sup>b</sup>	3.41±0.27 <sup>d</sup>	0.24±0.05 <sup>a,b</sup>
	Saldēts / Frozen	1.91±0.32 <sup>b</sup>	0.17±0.02 <sup>a</sup>	1.20±0.33 <sup>a,b,c</sup>	0.84±0.02 <sup>a,b,c</sup>
	Kaltēts / Dried	0.82±0.58 <sup>a</sup>	0.01±0.00 <sup>a</sup>	1.08±0.58 <sup>a,b,c</sup>	n.i.
Lupstāju lapas / Lovage leaves	Svaigs / Fresh	0.25±0.02 <sup>a</sup>	23.92±0.72 <sup>g</sup>	8.57±0.62 <sup>f</sup>	5.71±0.22 <sup>e</sup>
	Saldēts / Frozen	0.09±0.01 <sup>a</sup>	20.47±0.19 <sup>f</sup>	5.85±0.42 <sup>e</sup>	2.65±0.23 <sup>d</sup>
	Kaltēts / Dried	0.03±0.00 <sup>a</sup>	0.02±0.00 <sup>a</sup>	0.26±0.01 <sup>a</sup>	0.09±0.01 <sup>a</sup>
Lupstāju kāti / Lovage stems	Svaigs / Fresh	12.19±0.36 <sup>d</sup>	8.5±0.06 <sup>e</sup>	1.54±0.07 <sup>b,c</sup>	5.91±0.39 <sup>e</sup>
	Saldēts / Frozen	n.i.	7.54±0.59 <sup>d</sup>	0.99±0.08 <sup>a,b</sup>	1.34±0.84 <sup>c</sup>
	Kaltēts / Dried	0.47±0.04 <sup>a</sup>	2.87±0.23 <sup>c</sup>	2.01±0.18 <sup>c</sup>	1.09±0.09 <sup>b,c</sup>

\* Dažādie burti vienā kolonnā apzīmē būtiski nozīmīgas atšķirības starp vērtībām (Tjūkija tests,  $p < 0,05$ ) / The different letters in the same column represents significant differences between values (Tukey's test,  $p < 0.05$ ).

**AA izvērtējums.** Fenolu savienojumu antioksidantu potenciāls ir atkarīgs no hidroksilgrupu skaita un izkārtojuma, kā arī no elektrondonoru aizvietotāju klātbūtnes aromātiskā gredzena struktūrā (Elzaawely et al., 2007). Tiek uzskatīts, ka augu materiālā, kurš ir salīdzinoši nabadzīgs ar C vitamīnu, būtisku AA nodrošina flavonoīdi un fenolskābes (Iqbal et al., 2012).

Daudzfaktoru dispersijas analīzes rezultāti rāda, ka gan apstrādes veids, gan arī augu materiāls ir būtiski faktori ( $p < 0,05$ ), kas ietekmē AA (3.13. tab.).

ArA (DPPH<sup>·</sup> un ABTS<sup>·+</sup>) visos pētītajos paraugos netika novērota līdzīga tendence. DPPH<sup>·</sup> radikāļu saistīšanas spēja gan mārrutku lapās, gan arī lupstāju lapās pēc abiem apstrādes veidiem samazinājās. Saldētās lupstāju lapās tā samazinās par 7%, bet mārrutku lapās pat par 42%, salīdzinot saldētus paraugus ar svaigiem. Pretēja tendence bija vērojama lupstāju kātos, un, tos saldējot, DPPH<sup>·</sup> radikāļu saistīšanas spēja palielinājās par 65%. ArA pieaugumu var izskaidrot ar faktu, ka, sašķeļot molekulu kovalentās saites, tiek atbrīvots kāds antioksidantu savienojums, piemēram, flavonoīdi, karotīni, likopēns, tanīns, askorbāts, flavoproteīni vai polifenoli no polimēriem (Siriamornpun et al., 2012). Daudzi antioksidantu fenola savienojumi augos visbiežāk ir sastopami šūnu sienās kovalenti saistītā formā ar dažādiem polimēriem – celulozi, hemicelulozi, lignīnu un pektīnu (Wong et al., 2006; Siriamornpun et al., 2012).

Kaltēšanas rezultātā visos pētītajos paraugos ArA (DPPH<sup>·</sup>) samazinājās, pie kam vismazākais aktivitātes zudums bija kaltētās lupstāju lapās (par 20%), bet lielākais – mārrutku lapās (par 61%). Pētījumos par hara lapām DPPH<sup>·</sup> radikāļu saistīšanas aktivitāte pēc saldēšanas ir mazāka nekā pēc kaltēšanas istabas temperatūrā

(Lin et al., 2012). Antiradikālo īpašību zudumi termiskās apstrādes rezultātā ir attiecināmi uz fenolu savienojumu termisko degradēšanos (Chism, Haard, 1996; Lim, Murtijaya, 2007). ArA samazināšanos bieži pavada citu bioaktīvo īpašību zaudēšana (Roy et al., 2007).

3.13. tabula / Table 3.13

**AA mārrutku lapās, lupstāju lapās un kātos atkarībā no apstrādes veida /  
AA in horseradish leaves, lovage leaves and stems depending on treatment**

Augu materiāls / Plant material	Apstrādes veids / Type of treatment	DPPH <sup>·</sup> , mM TE 100 g <sup>-1</sup> sausnas / DW	ABTS <sup>·+</sup> , mM TE 100 g <sup>-1</sup> sausnas / DW	RS / RP, mg AAE 100 g <sup>-1</sup> sausnas / DW
Mārrutku lapas / Horseradish leaves	Svaigs / Fresh	22.84±0.07 <sup>b*</sup>	154.36±0.12 <sup>a</sup>	9573.4±9.1 <sup>d</sup>
	Saldēts / Frozen	13.21±0.04 <sup>d</sup>	88.62±0.09 <sup>d</sup>	15994.9±13.0 <sup>c</sup>
	Kaltēts / Dried	8.87±0.02 <sup>h</sup>	12.80±0.03 <sup>h</sup>	2254.7±2.7 <sup>i</sup>
Lupstāju lapas / Lovage leaves	Svaigs / Fresh	10.90±0.02 <sup>e</sup>	98.66±0.07 <sup>c</sup>	21225.2±20.0 <sup>b</sup>
	Saldēts / Frozen	10.12±0.02 <sup>f</sup>	99.61±0.07 <sup>b</sup>	22857.8±22.1 <sup>a</sup>
	Kaltēts / Dried	8.72±0.01 <sup>i</sup>	30.13±0.05 <sup>g</sup>	4196.3±4.1 <sup>g</sup>
Lupstāju kāti / Lovage stems	Svaigs / Fresh	21.25±0.06 <sup>c</sup>	32.50±0.05 <sup>f</sup>	4330.2±4.0 <sup>f</sup>
	Saldēts / Frozen	35.06±0.07 <sup>a</sup>	42.46±0.06 <sup>e</sup>	6684.5±5.9 <sup>e</sup>
	Kaltēts / Dried	9.82±0.03 <sup>g</sup>	3.98±0.01 <sup>i</sup>	2389.7±2.4 <sup>h</sup>

\* Dažādie burti vienā kolonnā apzīmē būtiski nozīmīgas atšķirības starp vērtībām (Tjūkija tests,  $p < 0,05$ ) / The different letters in the same column represents significant differences between values (Tukey's test,  $p < 0.05$ ).

ABTS<sup>·+</sup> katjonu saistīšanas spēju kaltēšana ietekmēja līdzīgi, un kaltētās lupstāju lapās šī aktivitāte samazinājās par 69%, kamēr mārrutku lapās pat par 92%. Tajā pašā laikā saldēšanas rezultātā lupstāju kātos ArA (ABTS<sup>·+</sup>) palielinājās pat par 31%. Pretējs efekts saldēšanai bija mārrutku lapās, kur ABTS<sup>·+</sup> ArA samazinājās par 43%.

Līdzīgi kā fenolu savienojumu saturs, arī reducēšanas spēja visiem saldētajiem paraugiem palielinājās, salīdzinot ar svaigiem. Lielāks šāds palielinājums vērojams mārrutku lapām un lupstāju kātiem (attiecīgi par 67% un 54%), kamēr kaltēšanas rezultātā mazāks netiešo AA zudums (par 45%) bija lupstāju kātos. Tādas pašas apstrādes ietekmes tendences kā KFIS gadījumā, vērojamas arī AA (Chan et al., 2009; Ahmad-Qasem et al., 2013).

**Sakarības starp fenolu savienojumu saturu un AA dažādi apstrādātās mārrutku lapās, lupstāju lapās un kātos.** Visas korelācijas starp analizētajiem mārrutku lapu un lupstāju lapu un kātu parametriem ir pozitīvas. Analizēto augu vidū visciešākā korelācija starp fenolu savienojumu saturu un AA bija lupstāju kātos, kas atspoguļota 3.14. tabulā, bet mārrutku lapās un lupstāju lapās šī sakarība bija vidēja un vāja.



**Korelācijas matrica starp saldētu un kaltētu lupstāju kātu KFS, KFIS un AA /  
Correlation matrix between TPC, TFC and AA of frozen and dried lovage stems**

Parametri / Parameters	KFS / TPC	KFIS / TFC	DPPH <sup>·</sup>	ABTS <sup>·+</sup>
KFS / TPC	<b>1</b>	×	×	×
KFIS / TFC	0.94**	<b>1</b>	×	×
DPPH <sup>·</sup>	0.99**	0.94**	<b>1</b>	×
ABTS <sup>·+</sup>	0.98**	0.99**	0.98**	<b>1</b>
RS / RP	0.99**	0.97**	0.99**	0.99**

\*\*Nozīmīgums / Significant at  $p < 0.01$ .

**3.2.2. Mikroviļņu-vakuuma un sublimācijas kaltēšanas procesa  
ietekmes izvērtējums /  
Assessment of effect of microwave-vacuum and freeze dried**

Konvencionālais kaltēšanas veids galvenokārt ir ilgstošs, tādēļ, lai to saīsinātu, tika meklētas mūsdienīgākas apstrādes metodes. Kā mūsdienīgāki apstrādes veidi promocijas darbā, tika izvēlēti mikroviļņu-vakuuma un sublimācijas kaltēšana, kuru ietekme tika analizēta uz mārrutku genotipa GJ sakņu paraugiem. Mikroviļņu-vakuuma kaltēšana ir efektīva metode ātrai produkta kaltēšanai, un tā ir izmantota dažādu augu izcelsmes produktu kaltēšanai. Kaltējot mikroviļņu-vakuuma kaltē, produkta apstrādes laiks ir īsāks, un kaltēšana nenorit paaugstinātā temperatūrā. Arī variējot pievadītās mikroviļņu enerģijas daudzumu, ir iespējams maksimāli saglabāt apstrādājamā produkta uzturvērtību (Dorofejeva et al., 2011; Kruma et al., 2011). Turpmāko pētījumu veikšanai izvēlēti saldēšanas un kaltēšanas parametri, balstoties uz citu zinātnieku pētījumiem (Dorofejeva et al., 2011; Kruma et al., 2011), un izvērtēta to piemērotība mārrutku sakņu lietošanas iespēju pagarināšanai.

**Fenolu savienojumi.** KFS un KFIS analizētajos mārrutku sakņu paraugos ir atspoguļots 3.15. tabulā. Tjūkija testa rezultāti parādīja, ka apstrādes veids būtiski ( $p < 0,05$ ) ietekmē fenola savienojumu saturu mārrutku saknēs.

Līdzīgi kā mango mizās (Dorta et al., 2012) arī mārrutku saknēs augstākais KFS tika konstatēts svaigos paraugos. Turpretim batātēs (Yang et al., 2010) un sīpolos (Arslan, Musa Özcan, 2010) svaigos paraugos konstatēja mazāku KFS, bet kaltētos paraugos – augstāku. Saldēšanas rezultātā KFS samazinās par 1%, kas nav būtiski, bet KFIS par 9%. Šāds fenolu savienojumu samazinājums ir pretējs, salīdzinot ar iepriekšējā nodaļā analizētajām saldētajām mārrutku lapām, lupstāju lapām un lupstāju kātiem. Pēc kaltēšanas mikroviļņu-vakuuma kaltē KFS samazinās par 18%, KFIS – par 15%. Vislielākie fenolu savienojumu zudumi konstatēti izmantojot sublimācijas kalti, kā rezultātā KFS samazinās par 28% un KFIS par 18%, salīdzinot ar svaigām mārrutku saknēm.

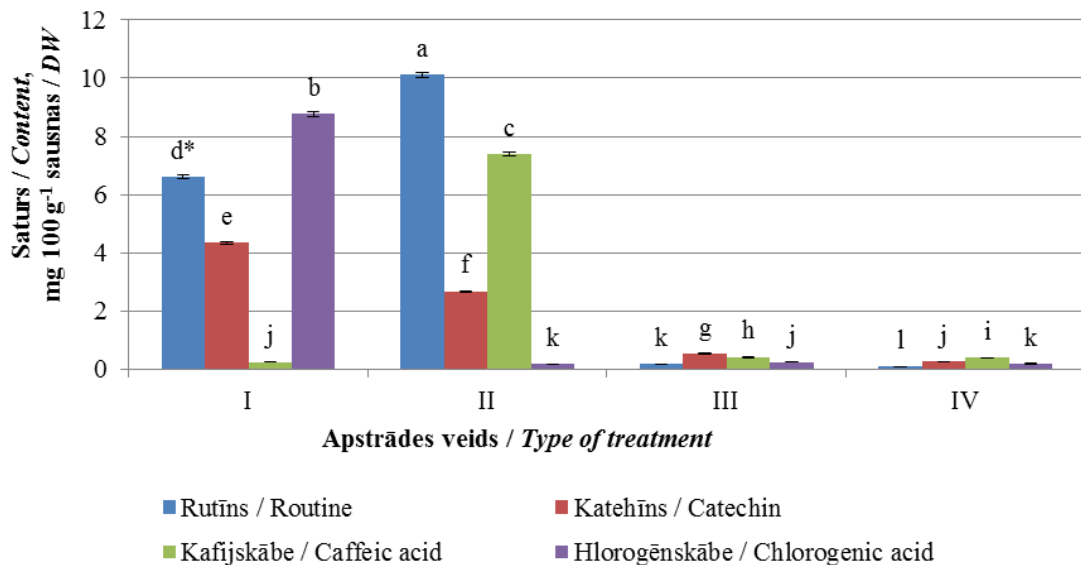
Starp flavonoīdu un fenolu attiecību dažādi apstrādātu paraugu veidos nebija būtiskas atšķirības ( $p < 0,05$ ), un flavonoīdi veido apmēram pusi visu fenolu savienojumu.

**KFS un KFIS dažādi apstrādātās mārrutku saknēs /  
TFC and TPC in the horseradish roots depending on treatment**

Apstrādes veids / Type of treatment	KFIS / TFC, mg CE 100 g <sup>-1</sup> sausnas / DW	KFS / TPC, mg GAE 100 g <sup>-1</sup> sausnas / DW	KFIS:KFS / TFC:TFC
Svaigs / Fresh	738.38±4.29 <sup>a*</sup>	399.84±5.83 <sup>a</sup>	0.54
Saldēts / Frozen	666.68±1.66 <sup>b</sup>	394.46±2.30 <sup>a</sup>	0.59
Kaltēts mikroviļņu-vakuuma kaltē / Microwave-vacuum dried	621.58±3.00 <sup>c</sup>	325.63±1.40 <sup>b</sup>	0.52
Kaltēts sublimācijas kaltē / Freeze dried	603.50±1.50 <sup>d</sup>	285.70±1.41 <sup>c</sup>	0.47

\* Dažādie burti vienā kolonnā apzīmē būtiski nozīmīgas atšķirības starp vērtībām (Tjūkija tests,  $p < 0,05$ ) / The different letters in the same column represents significant differences between values (Tukey 's test,  $p < 0.05$ ).

Atsevišķo fenolu savienojumu saturs. Kopumā visaugstākais atsevišķo fenolu saturs konstatēts svaigos paraugos (3.13. att.), izņemot kafijskābi un rutīnu, kas augstākā koncentrācijā tika atrasti saldētās mārrutku saknēs.



**3.13. att. Atsevišķo fenolu satura izmaiņas mārrutku saknēs apstrādes ietekmē /  
Fig. 3.13. Changes of content of individual phenols of horseradish roots  
depending on treatment**

I – svaigs / Fresh; II – saldēts / Freez; III – kaltēts mikroviļņu-vakuuma kaltē / Microwave-vacuum dried; IV – kaltēts sublimācijas kaltē / Freeze dried

\* Vērtības, kas atzīmētas ar vienu un to pašu burtu, nav būtiski atšķirīgas savā starpā, ja  $p < 0,05$  / The different letters represents significant differences between values ( $p < 0.05$ ).

Tāpat pētījuma rezultāti par kliņģerīšu (*Tagetes erecta* L.) ziediem (Siriamornpun et al., 2012) liecina, ka svaigos paraugos fenolu saturs bija augstāks, bet rozmarīnskābes saturs svaigos *Lamiaceae* garšaugos bija zemāks nekā sublimētos paraugos (Hossain et al., 2010). Katras apstrādes rezultātā lielākā koncentrācijā tika identificēti atšķirīgi fenoli, piemēram, svaigā paraugā – hlorogēnskābe, sasaldētā –

rutīns, pēc apstrādes mikroviļņu-vakuuma kaltē – katehīns, sublimācijas kaltē – kafijskābe.

Rutīna saturs mārrutku saknēs pēc saldēšanas palielinājās 1,53 reizes, kas ir līdzīga tendence kā 3.2.1. apakšnodaļā apskatītā, bet kafijskābes saturs – 31 reizes. To iespējams skaidrot ar mārrutku saknēs esošo komplekso savienojumu hidrolīzi. Savukārt pēc kaltēšanas visu identificēto fenolu saturs ievērojami samazinājās vai pat vispār netika konstatēts. Kaltējot gan mikroviļņu-vakuuma kaltē, gan sublimācijas kaltē, mārrutku saknēs esošie fenolu savienojumi degradējās, kas norāda, ka mārrutku saknēm kaltēšana nav piemērots apstrādes veids. Tas izrāda līdzīgas tendences kā dillēm, koriandriem, selerijām un pētersīļiem, kur kaltējot būtiski samazinās KFS, bet pēc apstrādes mikroviļņu-vakuuma kaltē šis samazinājums ir vislielākais (Kamel et al., 2013).

**AA izvērtējums.** Dažādu apstrādes veidu ietekmē mārrutku saknēs bija vērojamas variācijas (3.16. tab.).

3.16. tabula / Table 3.16

**AA dažādi apstrādātās mārrutku saknēs /  
Antioxidant activity of the horseradish roots depending on the type of treatment**

Apstrādes veids / Type of treatment	DPPH <sup>•</sup> , mM TE 100 g <sup>-1</sup> sausnas / DW	ABTS <sup>•+</sup> , mM TE 100 g <sup>-1</sup> sausnas / DW	RS / RP, mg AAE 100 g <sup>-1</sup> sausnas / DW
Svaigs / Fresh	53.57±1.17 <sup>a*</sup>	9.50±2.08 <sup>c</sup>	5272.92±13.16 <sup>b</sup>
Saldēts / Frozen	20.87±0.17 <sup>b</sup>	30.10±0.42 <sup>a</sup>	6825.37±19.59 <sup>a</sup>
Kaltēts mikroviļņu-vakuuma kaltē / Microwave-vacuum dried	7.44±0.11 <sup>d</sup>	13.05±0.29 <sup>b</sup>	2534.03±3.84 <sup>c</sup>
Kaltēts sublimācijas kaltē / Freeze-dried	13.71±0.07 <sup>c</sup>	5.41±0.90 <sup>d</sup>	2261.58±10.15 <sup>d</sup>

\* Dažādie burti vienā kolonnā apzīmē būtiski nozīmīgas atšķirības starp vērtībām (Tjūkija tests,  $p < 0,05$ ) / The different letters in the same column represents significant differences between values (Tukey's test,  $p < 0.05$ ).

Analīžu rezultāti rāda, ka apstrādes process ir būtisks faktors, kas ietekmē AA mārrutku saknēs ( $p < 0,05$ ). Augstākā DPPH<sup>•</sup> ArA tika konstatēta svaigos paraugos. Saldējot tā samazinājās par 61%, pēc apstrādes sublimācijas kaltē – par 74%, bet mikroviļņu-vakuuma kaltē apstrādātās mārrutku saknes zaudēja visvairāk šīs aktivitātes (86%). ABTS<sup>•+</sup> ArA un reducēšanas spējas testu rezultāti augstākus rādītājus uzrādīja saldētiem paraugiem un šī aktivitāte palielinājās attiecīgi 3,17 reizes un 1,29 reizes. ABTS<sup>•+</sup> ArA pat pēc kaltēšanas mikroviļņu-vakuuma kaltē bija 1,37 reizes lielāka nekā svaigām saknēm, bet vismazākā pēc apstrādes sublimācijas kaltē. Savukārt reducēšanas spēja pēc apstrādes mikroviļņu-vakuuma kaltē samazinājās 2,08 reizes, bet pēc sublimācijas kaltes – 2,33 reizes, salīdzinot ar svaigām saknēm. Līdzīga tendence tika konstatēta mango mizās (Dorta et al., 2012), kamēr antioksidanti saldajos kartupeļos uzrādīja vislielāko AA pēc mikroviļņu-vakuuma kaltēšanas, mazāka AA bija saldētiem paraugiem, bet svaigie paraugi uzrādīja viszemākos rezultātus (Yang et al., 2010).

**Sakarības starp fenolu savienojumu saturu un AA mārrutku saknēs.** Korelācija starp KFS un KFIS dažādi apstrādātām mārrutku saknēm bija cieša ( $r = 0,89$ ), kamēr starp atsevišķu fenolu saturu tā svārstījās no ļoti ciešas līdz ļoti vājai, savukārt starp dažādiem antioksidantu testiem tā bija vidēja vai vāja. Šāda korelācija ir līdzīga kā 3.2.1. apakšnodaļā apskatītajiem dažādi apstrādātajiem lupstāju kātiem, lupstāju lapām un mārrutku lapām. Pētījumos par sublimēšanu un karsta gaisa ietekmi uz kazenēm bija

konstatētas vidēji ciešas korelācijas starp KFS un reducēšanas spēju 0,73, KFS un ArA (DPPH<sup>·</sup>) 0,62, ArA (DPPH<sup>·</sup>) un reducēšanas spēju 0,71 (Wu et al., 2010).

### 3.2. nodaļas kopsavilkums

Kā labāko lupstāju un mārrotku apstrādes veidu to uzglabāšanai var ieteikt saldēšanu, jo saldējot palielinās KFS un AA lupstāju kātos, bet lupstāju lapās KFIS un reducēšanas spēja, savukārt mārrotku saknēs rutīna un kafijskābes saturs.

Gan tradicionālās kaltēšanas, gan arī sublimēšanas rezultātā samazinās fenolu savienojumu saturs un to antioksidatīvā aktivitāte, vienīgi pēc apstrādes mikroviļņu-vakuuma kaltē palielinās ABTS<sup>·+</sup> AA mārrotku saknēs.

Apkopojot visus dažādi apstrādātu mārrotku un lupstāju analīžu rezultātus, tika izmantota hierarhiskā klasteru analīze, lai sagrupētu datu kopumu no 5 mainīgajiem (KFS, KFIS, ArA un reducēšanas spēju) un 13 paraugiem, kā rezultātā analizētos paraugus pēc fenolu savienojumu satura un to AA var iedalīti 4 klasteros (3.17. tab.).

3.17. tabula / Table 3.17

**Dažādi apstrādātu mārrotku un lupstāju sadalījums klasteros pēc fenolu savienojumu satura un AA / Distribution of horseradish and lovage in clusters by content of phenolic compounds and AA depending on treatment**

Klasteri / Cluster	Augu materiāls / Plant material	Vidējās vērtības klasteros / The average value of clusters				
		KFS / TPC, mg GAE 100 g <sup>-1</sup> sausas / DW	KFIS / TFC, mg CE 100 g <sup>-1</sup> sausas / DW	DPPH, mM TE 100 g <sup>-1</sup> sausas / DW	ABTS, mM TE 100 g <sup>-1</sup> sausas / DW	RS/ RP, mg AAE 100 g <sup>-1</sup> sausas / DW
1	H_R_Fresh	738.38	399.84	53.57	9.50	5272.92
2	H_R_Frozen, H_R_MV, H_R_Subl, H_L_Dried, L_L_Dried, L_S_Fresh, L_S_Frozen, L_S_Dried	407.39	562.09	15.72	21.30	3934.53
3	H_L_Fresh, H_L_Frozen	2545.31	6033.94	18.03	121.49	12784.13
4	L_L_Fresh, L_L_Frozen	1597.74	3256.87	10.51	99.14	22041.52

\* Paraugu apzīmējuma atšifrējumu skatīt 2.3. apakšnodaļas 2.2. tabulā / designation of the sample codes see in Subchapter 2.3., Table 2.2.

Augu paraugi ar lielāko KFS un KFIS ir apvienoti trešajā klasterī (mārrotku lapu paraugi), savukārt analizētie paraugi ar lielāko reducēšanas spēju ir apvienoti ceturtajā klasterī (lupstāju lapu paraugi).

### Summary of Chapter 3.2

*Freezing can be recommended as the best lovage and horseradish treatment method for storage, because freezing increases KFS and AA in lovage stems, KFIS and reducing power in lovage leaves, and rutin and caffeic acid content in horseradish roots.*

*Both as a result of traditional drying and as a result of sublimation, the content of phenolic compounds and their antioxidant activity decline; only after treatment in a microwave-vacuum drying chamber ABTS<sup>·+</sup> AA increases in horseradish roots.*

*In aggregating all analysis results of variously treated horseradish and lovage, hierarchical cluster analysis was used in order to group the body of data from*

five variables (KFS, KFIS, ArA and reducing power) and 13 samples; as a result, the analyzed samples can be divided into 4 clusters by the phenolic compound content and their AA (Table 3.17).

Plant samples with the greatest KFS and KFIS are united in the third cluster (horseradish leave samples), while the analyzed samples with the greatest reducing power are united in the fourth cluster (lovage leave samples).

### **3.3. Ekstrakcijas apstākļu ietekme uz bioloģiski aktīvo savienojumu saturu mērrutku un lupstāju ekstraktos / Comparison of biologically active compounds of horseradish and lovage and assessment of their antioxidative activity as affected by conditions of extraction**

Bioloģiski aktīvo savienojumu (dabīgo antioksidantu) saturu mērrutku un lupstāju ekstraktos būtiski ietekmē ekstrakcijas šķīdinātāja polaritāte, ekstrakcijas ilgums, ekstrakcijas temperatūra un spiediens, kā arī ekstrakcijas metode. Analizējot eksperimentāli iegūtos rezultātus, veikts sublimācijas kaltē kaltētu mērrutku un lupstāju galveno bioloģiski aktīvo savienojumu izvērtējums ekstraktos atkarībā no ekstrakcijas šķīdinātāja, ekstrakcijas ilguma, ekstrakcijas temperatūras un spiediena, kā arī ekstrakcijas metodes.

#### **3.3.1. Ekstrakcijas šķīdinātāju ietekmes izvērtējums / Assessment of effect of the extraction solvents.**

Ekstrakcijas šķīdinātāju ietekmes izvērtējumam tika izvēlētas plaši izmantotas ekstrakcijas metodes – konvencionālā un Soksleta metode. Tās ir metodes, kurām galvenais variējamais ekstrakcijas parametrs ir izmantotais šķīdinātājs. Konvencionālā ekstrakcija tika veikta apkārtējās vides temperatūrā, bet ekstrakcija Soksleta iekārtā – šķīdinātāja viršanas temperatūrā. Tjūkija testa rezultāti rādīja, ka gan ekstrakcijas metode, gan izmantotais šķīdinātājs būtiski ietekmē visu analizēto parametru izmaiņas.

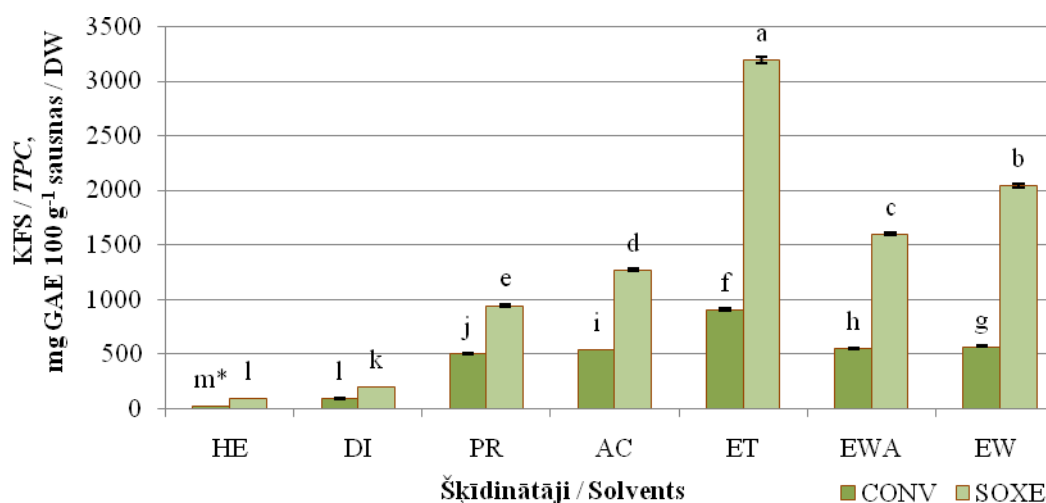
**Fenolu savienojumi.** Daudzfaktoru dispersijas analīzes rezultāti parādīja, ka gan izmantotais šķīdinātājs, gan ekstrakcijas metode ir nozīmīgi faktori, kas ietekmē KFS un KFIS ( $p < 0,05$ ).

Visiem pētītajiem augu materiāliem augstāki KFS rezultāti iegūti, izmantojot Soksleta ekstrakciju. Tas iespējams skaidrojams ar šķīdinātāja tilpuma attiecību pret paraugu. Konvencionālajā ekstrakcijā šī proporcija bija vidēji 1:10, bet Soksleta – 1:40. Tradicionālajām ekstrakcijas metodēm, kādas ir konvencionālā un Soksleta metode, fitosavienojumu izdalīšana galvenokārt pieaug, palielinoties šķīdinātāja tilpumam (Mandal et al., 2007a).

Fenolu izdalīšanā no augu izejvielām šķīdinātāja izvēle ir svarīga, jo tā ietekmē šo savienojumu šķīdību (Angela, Meireles, 2009; Nićiforović et al., 2010). Promocijas darbā tika izmantoti septiņi šķīdinātāji, ar atšķirīgu polaritāti, un tos var sarindot šādi (sākot no visnepolārākajiem šķīdinātājiem, saskaņā ar polaritātes indeksiem): HE<DI<PR<AC<ET<EWA<EW. Ekstrakcijas šķīdinātāja atlase balstās uz vairākiem faktoriem, kā fizikāli ķīmiskajām īpašībām, izmaksām un toksiskumu. Dažu šķīdinātāju toksiskuma dēļ pastāv ierobežojumi to lietošanai pārtikas rūpniecībā. Saskaņā ar Latvijas likumu aktiem („Obligātās nekaitīguma prasības pārtikai, kuras ražošanā izmanto ekstrahējošus šķīdinātājus” MKN Nr. 369 no 17.05.2011.) tādu šķīdinātāju kā acetons, butāns, etanols, etilacetāts, oglekļa dioksīds, propāns un slāpekļa (I) oksīds ir atļauts izmantot visos pārtikas ražošanas tehnoloģiskajos procesos. Obligātās

nekaitīguma prasības pārtikai, kuras ražošanā izmanto ekstrahējošus šķīdinātājus, nosaka, ka propān-2-ola maksimālais pieļaujamais atlikums pārtikā ir  $10 \text{ mg kg}^{-1}$ , heksāna –  $1\text{--}30 \text{ mg kg}^{-1}$  (atkarībā no produktu veida) ("Obligātās nekaitīguma prasības pārtikai, kuras ražošanā izmanto ekstrahējošus šķīdinātājus" MKN Nr. 369 no 17.05.2011.).

Šķīdinātāja polaritātei ir liela nozīme, lai palielinātu fenolu savienojumu šķīdību (Nacz, Shahidi, 2006). Iegūtie rezultāti parādīja, ka KFS kopumā pieauga, palielinoties šķīdinātāju polaritātei. Mārrutku lapu ekstraktos KFS palielinājās vidēji 42 reizes (3.14. att.), lupstāju lapu ekstraktos KFS palielinājās pat 58 reizes (6. pielikums), savukārt vismazākās svārstības bija lupstāju sakņu (9 reizes) un mārrutku sakņu ekstraktos (13 reizes) (3.18.tab.).



**3.14. att. Šķīdinātāja ietekme uz fenolu saturu mārrutku lapu ekstraktos / Fig. 3.14. Total phenolic content in horseradish leaves depending on solvent**

No izvēlētajiem šķīdinātājiem zemākā polaritāte ir heksānam (HE), bet augstākā etanola/ūdens/etiķskābes (EWA) un etanola/ūdens (EW) maisījumiem.

\* Vērtības, kas atzīmētas ar vienu un to pašu burtu, nav būtiski atšķirīgas savā starpā, ja  $p < 0.05$  / Mean values marked with the same letter do not differ significantly at  $p < 0.05$ .

Šī tendence konvencionālajā ekstrakcijas metodē izteiktāka bija mārrutku lapu un sakņu ekstraktiem, kā arī lupstāju kātu ekstraktiem, bet ekstrahējot ar Soksleta metodi, – lupstāju lapu un sakņu ekstraktiem. Analīžu rezultāti parāda, ka augstākais KFS mārrutku lapu un sakņu, kā arī lupstāju sakņu ekstraktos tika iegūts, izmantojot 95% etanolu ar abām ekstrakcijas metodēm, savukārt lupstāju lapu un kātu ekstraktos – ar etanola-ūdens (EW) maisījumu. Fenolu savienojumu polaritāte atšķiras, tāpēc ir grūti izstrādāt standarta ekstrakcijas procedūru, kas būtu piemērota visu augu fenolu ekstrakcijai.

Etanola un ūdens maisījumi plaši izmantoti fenolu savienojumu ekstrakcijai no augu materiāliem (Durling et al., 2007; Alothman et al., 2009). Arī *Halacsya sendtneri* L. lielāku KFS konstatēja, ekstrahējot Soksleta iekārtā ar 96% etanolu (Nićiforović et al., 2010), kas ir līdzīgi kā mārrutku un lupstāju ekstraktu rezultātiem. Tas ir saistīts ar plašu fenolu savienojumu klāstu, ko ūdens un etanola maisījumi var izšķīdināt. Turklāt etanola maisījumi ir atļauti lietošanai pārtikas sistēmām (Alothman et al., 2009).

**Ekstrakcijas šķīdinātāja un metodes ietekme uz KFS mārrotku sakņu ekstraktos /  
TPC of extracts of horseradish roots depending on extraction solvent and method,  
mg GAE 100 g<sup>-1</sup> sausnas / DW**

		<b>G12B</b>	<b>G106</b>
CONV	HE	23.02±0.91 <sup>a*</sup>	20.73±4.34 <sup>a</sup>
	DI	29.16±0.35 <sup>a</sup>	65.73±8.68 <sup>b</sup>
	PR	266.66±2.75 <sup>e</sup>	264.81±8.46 <sup>d</sup>
	AC	239.00±2.55 <sup>d</sup>	277.75±588 <sup>d</sup>
	ET	341.72±2.52 <sup>g</sup>	304.35±7.12 <sup>e</sup>
	EWA	291.55±2.87 <sup>f</sup>	281.53±7.99 <sup>d</sup>
	EW	248.71±2.08 <sup>d</sup>	307.52±5.35 <sup>e</sup>
SOXE	HE	68.68±1.12 <sup>b</sup>	243.77±2.05 <sup>c</sup>
	DI	122.01±3.02 <sup>c</sup>	872.04±8.89 <sup>h</sup>
	PR	743.49±7.84 <sup>k</sup>	824.37±8.38 <sup>g</sup>
	AC	564.94±5.02 <sup>i</sup>	743.23±7.82 <sup>f</sup>
	ET	562.60±5.67 <sup>i</sup>	985.87±9.07 <sup>i</sup>
	EWA	489.32±4.03 <sup>h</sup>	886.62±8.10 <sup>h</sup>
	EW	705.33±6.82 <sup>j</sup>	307.52±5.35 <sup>e</sup>

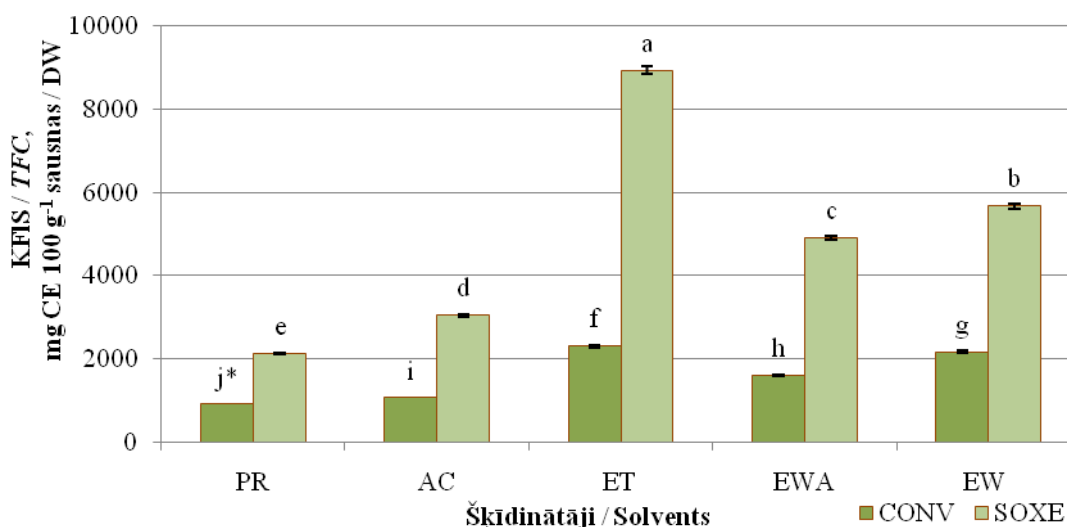
\*Dažādie burti vienā kolonnā apzīmē būtiski nozīmīgas atšķirības starp vērtībām (Tjūkija tests,  $p < 0,05$ ) / The different letters in the same column represents significant differences between values (Tukey's test,  $p < 0,05$ ).

Literatūrā ir atrodami arī pretēji rezultāti, un lielāko KFS no svaigām *C. siliqua* lapām ekstrahēja ar heksānu un etilacetātu (Hsouna et al., 2011), no svaigiem līčijas (*L. chinensis* Sonn.) ziediem ar acetonu un ūdeni (Liu et al., 2009). Savukārt Malaizijas pētnieki ziņojuši, ka augstākais KFS bija ananasu etanola-ūdens maisījuma ekstraktā, banānu un gvajaves augļu acetona-ūdens maisījuma ekstraktos (Alothman et al., 2009), turpretim no Spānijas baltajiem sīpoliem ar 100% acetona ekstraktu ieguva zemākos KFS rezultātus (Santas et al., 2009). Pētījumos par *Artemisiaargyi* L. lapām KFS metanola ekstraktā bija augstāks nekā ūdens ekstraktā, lai gan *Pyrrosialingua* L. lapas demonstrēja pretēju efektu (Cai et al., 2004). Kā redzams no pētījuma rezultātiem, kā arī no citu zinātnieku veiktajiem atklājumiem, nav iespējams ieteikt kādu šķīdinātāju, kas būtu visefektīvākais visiem augu materiāliem.

Arī **KFIS** analizētajos mārrotku un lupstāju ekstraktos izrādīja līdzīgas tendences kā KFS. KFIS mārrotku lapu ekstraktos, lietojot konvencionālo un Soksleta ekstrakcijas metodi, atkarībā no šķīdinātājiem svārstījās attiecīgi no 770,45 līdz 2306,65 mg CE 100 g<sup>-1</sup> sausnas un 2121,69–8929,22 mg CE 100 g<sup>-1</sup> sausnas (3.15. att.). Arī lupstāju ekstraktiem šie rādītāji visai ievērojami svārstījās (7. pielikums).

Tāpat kā KFS, arī KFIS mārrotku un lupstāju ekstraktos, izmantojot Soksleta metodi, bija vidēji trīs reizes lielāks, nekā izmantojot konvencionālo ekstrakcijas metodi. To varētu sekmēt viens no ietekmējošajiem faktoriem – šķīdinātāja attiecība pret parauga masu, kas Soksleta metodē ir lielāka.

Mārrotku lapu ekstraktos, pēc Soksleta metodes, ir izteiktāka tendence, pieaugot šķīdinātāja polaritātei, palielināties KFIS vairāk nekā četras reizes, bet lupstāju sakņu ekstraktos pat deviņas reizes.



### 3.15. att. Kopējais flavonoīdu saturs mārrutku lapu ekstraktos atkarībā no šķīdinātāja /

**Fig. 3.15. Total flavonoids content in horseradish leaves depending on solvent:**

No izvēlētajiem šķīdinātājiem zemākā polaritāte ir heksānam (HE), bet augstākā etanola/ūdens/etiķskābes (EWA) un etanola/ūdens (EW) maisījumiem.

\* Vērtības, kas atzīmētas ar vienu un to pašu burtu, nav būtiski atšķirīgas savā starpā, ja  $p < 0.05$  / Mean values marked with the same letter do not differ significantly at  $p < 0.05$ .

Eksperimentu rezultāti rāda, ka ekstraktos gan no mārrutkiem, gan lupstājiem visaugstākais KFIS konstatēts, izmantojot 95% etanolu (ar abām ekstrakcijas metodēm). Līdzīgi rezultāti bija iegūti eksperimentos ar *Moringa oleifera* L. lapām, kur KFS palielinājās, palielinoties etanola koncentrācijai (Vongsak et al., 2012). Arī eksperimenti ar *Potentilla fulgens* saknēm (Jaitak et al., 2010) un rapšu spiedpaliekām (Hassas-Roudsari et al., 2009) rādīja, ka augstāks KFIS iegūts ar polārākiem šķīdinātājiem.

KFIS proporcija KFS svārstījās no 0,21 līdz 0,44, un šī proporcija palielinās, pieaugot šķīdinātāja polaritātei. No tā var secināt, ka šķīdinātāji ar augstāku polaritāti labāk izolē flavonoīdu tipa savienojumus. Eksperimentos iegūtie rezultāti ir līdzīgi D. Marinova un kolēģu konstatētajiem lielumiem (Marinova et al., 2005).

**AA izvērtējums.** Daudzfaktoru dispersijas analīzes rezultāti parādīja, ka šķīdinātājs, kā arī ekstrakcijas metode būtiski ( $p < 0,05$ ) ietekmē ekstraktu AA.

Eksperimentu rezultātos vērojamas atšķirības DPPH<sup>·</sup> un ABTS<sup>·+</sup> radikāļu saistīšanas aktivitātē starp mārrutku lapu ekstraktiem, kas iegūti, izmantojot konvencionālo un Soksleta ekstrakcijas metodi (3.19.tab.).

Arī mārrutku sakņu ekstraktu AA ir mainīga atkarībā no ekstrakcijas metodes un lietotā šķīdinātāja (3.20. tab.).

Gan mārrutku lapu, gan arī mārrutku sakņu ekstraktiem Soksleta ekstrakcijas rezultātā tika iegūti ekstrakti ar vidēji sešas reizes lielāku ArA. Tādas pašas iezīmes tika konstatētas arī lupstāju ekstraktiem, un lielāko antiradikālo aktivitāti (DPPH<sup>·</sup>) izrādīja lupstāju lapu ekstrakti (168,76 mM TE 100 g<sup>-1</sup> sausas), bet viszemāko lupstāju sakņu ekstrakti (32,01 mM TE 100 g<sup>-1</sup> sausas) (8. pielikums). Savukārt antiradikālās aktivitātes, mērītas pēc ABTS<sup>·+</sup> radikāļa saistīšanas spējas, labākie rezultāti iegūti ar lupstāju kātu ekstraktiem (623,42 mM TE 100 g<sup>-1</sup> sausas), bet zemākie – ar lupstāju sakņu ekstraktiem (20,66 mM TE 100 g<sup>-1</sup> sausas).



3.19. tabula / Table 3.19

**Ekstrakcijas šķīdinātāja un metodes ietekme uz AA mārrutku lapu ekstraktos /  
Antioxidant activity of horseradish leaves depending on extraction  
solvent and method**

		DPPH <sup>·</sup> , mM TE 100 g <sup>-1</sup> sausnas / DW	ABTS <sup>·+</sup> , mM TE 100 g <sup>-1</sup> sausnas / DW	RS / RP, mg AAE 100 g <sup>-1</sup> sausnas / DW
CONV	HE	5.35±0.05 <sup>a*</sup>	n.d.	n.d.
	DI	5.52±0.05 <sup>a</sup>	n.d.	n.d.
	PR	6.76±0.07 <sup>b</sup>	14.31±0.11 <sup>a</sup>	1130.42±12.05 <sup>a</sup>
	AC	7.29±0.07 <sup>c</sup>	15.36±0.12 <sup>b</sup>	1225.98±14.66 <sup>b</sup>
	ET	10.11±0.09 <sup>e</sup>	19.61±0.21 <sup>e</sup>	2729.94±20.81 <sup>e</sup>
	EWA	8.80±0.09 <sup>d</sup>	16.98±0.18 <sup>c</sup>	1741.63±14.12 <sup>c</sup>
	EW	8.92±0.09 <sup>d</sup>	17.21±0.21 <sup>d</sup>	2043.34±19.80 <sup>d</sup>
SOXE	HE	35.58±0.40 <sup>g</sup>	n.d.	n.d.
	DI	36.59±0.39 <sup>h</sup>	n.d.	n.d.
	PR	43.75±0.37 <sup>i</sup>	84.87±0.87 <sup>g</sup>	4815.94±45.76 <sup>g</sup>
	AC	47.01±0.44 <sup>j</sup>	85.50±0.91 <sup>h</sup>	5216.38±49.48 <sup>h</sup>
	ET	68.78±0.62 <sup>m</sup>	116.79±1.06 <sup>k</sup>	9616.67±93.84 <sup>k</sup>
	EWA	51.71±0.56 <sup>k</sup>	100.44±1.04 <sup>i</sup>	5512.39±54.12 <sup>i</sup>
	EW	55.24±0.51 <sup>l</sup>	102.02±1.05 <sup>j</sup>	5801.34±59.79 <sup>j</sup>
BHT	ET	27.10±0.25 <sup>f</sup>	66.82±0.64 <sup>f</sup>	3660.32±34.65 <sup>f</sup>

\*Dažādie burti vienā kolonnā apzīmē būtiski nozīmīgas atšķirības starp vērtībām (Tjūkija tests,  $p < 0,05$ ) /  
The different letters in the same column represents significant differences between values  
(Tukey's test,  $p < 0,05$ ).

Salīdzinot AA, ar mūsu valstī maksimāli atļauto BHT koncentrāciju, mārrutku lapu un lupstāju kātu un lapu ekstraktiem, kas iegūti ar Soksleta ekstrakcijas metodi, rezultāti ir augstāki, bet ar konvencionālo metodi – zemāki.

3.20. tabula / Table 3.20

**Ekstrakcijas šķīdinātāja un metodes ietekme uz DPPH<sup>·</sup> radikāļu saistīšanas  
aktivitāti mārrutku sakņu ekstraktos / SA of extracts of horseradish roots  
depending on extraction solvent and method, mM TE 100 g<sup>-1</sup> sausnas / DW**

		G12B	G106
CONV	HE	9.06±0.20 <sup>d*</sup>	2.93±0.13 <sup>a</sup>
	DI	7.36±0.47 <sup>b,c</sup>	3.27±0.08 <sup>a</sup>
	PR	1.05±0.07 <sup>a</sup>	5.54±0.09 <sup>b</sup>
	AC	9.04±0.09 <sup>c,d</sup>	5.34±0.19 <sup>b</sup>
	ET	1.27±0.04 <sup>a</sup>	5.47±0.21 <sup>b</sup>
	EWA	1.64±0.08 <sup>a</sup>	6.44±0.47 <sup>b,c</sup>
	EW	6.50±0.44 <sup>b</sup>	5.66±0.33 <sup>b</sup>
SOXE	HE	50.93±0.20 <sup>e</sup>	14.85±0.87 <sup>e</sup>
	DI	52.19±0.08 <sup>e</sup>	8.00±1.21 <sup>c</sup>
	PR	51.96±0.16 <sup>e</sup>	6.99±0.29 <sup>b,c</sup>
	AC	56.35±0.12 <sup>f</sup>	18.55±0.75 <sup>f</sup>
	ET	56.97±0.79 <sup>f</sup>	18.02±1.24 <sup>f</sup>
	EWA	57.28±1.46 <sup>f</sup>	11.22±0.64 <sup>d</sup>
	EW	60.20±1.10 <sup>g</sup>	7.54±0.10 <sup>c</sup>

\*Dažādie burti vienā kolonnā apzīmē būtiski nozīmīgas atšķirības starp vērtībām (Tjūkija tests,  $p < 0,05$ ) /  
The different letters in the same column represents significant differences between values  
(Tukey's test,  $p < 0,05$ ).

Šie rezultāti apstiprināja, ka, izmantojot šajā darbā pētīto augu materiālu ekstraktus pārtikas produktos, var aizstāt sintētiskos antioksidantus un ir nepieciešams turpināt eksperimentus reālās pārtikas matricās.

Literatūras dati liecina, ka AA atšķiras atkarībā no lietotā šķīdinātāja un pārtikas matricas (Alothman et al., 2009; López et al., 2011). Malaizijas tropu augļiem DPPH` radikāļu saistīšanas aktivitāte bija atšķirīga, un ananasiem tā svārstījās no 12,7% līdz 93,7%, banāniem – no 32,8% līdz 79,1%, gvajaves augļiem – no 67,5% līdz 94,6% (Alothman et al., 2009).

Vislielākā aktivitāte tika konstatēta, izmantojot Soksleta metodi, mērrutku genotipa G106 sakņu ekstraktam etanola-ūdens maisījumā (EW) (3.20. tab.), bet mērrutku lapu ekstraktam etanolā. Ekstrakcija pēc Soksleta metodes lupstāju paraugiem izrādījās labāka, lai iegūtu ekstraktus ar lielāku radikāļu saistīšanas aktivitāti, pie kam ar vairākiem izteikti polāriem šķīdinātājiem (8. pielikums). Līdz ar to nevar izcelt kādu labāko šķīdinātāju, jo starp etanolu, etanola-ūdens-etiķskābes un etanola-ūdens maisījumiem nebija izteiktas atšķirības.

Izmantojot abas ekstrakcijas metodes ir iespējams novērot antiradikālās aktivitātes pieaugumu, palielinoties šķīdinātāju polaritātei, kas ir saskaņā arī ar literatūras datiem par *Potentilla fulgens* saknēm (Jaitak et al., 2010), rapšu spiedpaliekām (Hassas-Roudsari et al., 2009). Pētījumā par *Artemisia argyi* L. lapām tika konstatēts, ka tāpat kā fenolu saturs, arī AA ūdens ekstraktā bija augstāka nekā metanola ekstraktā, bet pretēja tendence bija vērojama *Pyrrosia lingua* L. lapām (Cai et al., 2004). Svaigu diļļu (*Anethum graveolens* L.) ziedu etanola ekstrakts arī parādīja augstāku trolokso ekvivalentu antioksidantu aktivitāti, salīdzinot ar heksāna ekstraktu (Shyu et al., 2009), un šis novērojums ir saskaņā ar mērrutku ekstraktu rezultātiem. Konvencionālai ekstrakcijai šī tendence bija izteiktāka un lupstāju sakņu ekstraktu ArA (DPPH`) palielinājās pat 15 reizes, savukārt mērrutku sakņu ekstraktiem palielinājās vidēji sešas reizes, bet ar Soksleta metodi – divas reizes, ko varētu skaidrot ar dabīgo antioksidantu termisko degradāciju.

Līdzīgas tendences vērojamas arī literatūras datos, kur vislielākā ArA aļģēm bija vērojama, ekstrahējot ar ūdeni (López et al., 2011), starp Malaizijas tropu augļiem – ananasiem un gvajaves augļiem ekstrahējot ar 90% acetonu, un banāniem, ekstrahējot ar 70% etanolu (Alothman et al., 2009). Literatūrā ir atrodami dati, ka acetona-ūdens maisījumi ir laba šķīdinātāju sistēma polāro antioksidantu ieguvei (Lu, Yeap Foo, 1999; Luximon-Ramma et al., 2005). Iegūtie eksperimentu rezultāti liecina, ka acetons ir labs šķīdinātājs, salīdzinot ar citiem, bet tas nav labākais mērrutkiem un lupstājiem. Tas varētu nozīmēt, ka mērrutki un lupstāji satur polārākus dabīgos antioksidantus, kurus iespējams ekstrahēt ar polārākiem šķīdinātājiem nekā acetons.

Arī netiešo AA mērrutku lapu un lupstāju paraugu ekstraktiem bija lielāka, ekstrahējot Soksleta aparātā ar etanolu (9. pielikums). Starp lupstāju ekstraktiem lielāka reducēšanas spēja tika konstatēta lupstāju kātu ekstraktiem (9192,06 mg AAE 100 g<sup>-1</sup> sausas), bet mazākā lupstāju sakņu ekstraktiem (2489,79 mg AAE 100 g<sup>-1</sup> sausas). Mazāk polārajiem šķīdinātājiem šī aktivitāte bija vidēji četras reizes mazāka nekā izteikti polārajiem šķīdinātājiem, pie kam izteiktāk tas bija lupstāju lapu ekstraktiem ar abām ekstrakcijas metodēm.

**Sakarības starp fenolu savienojumu saturu un AA mērrutku un lupstāju ekstraktos.** Fenolu savienojumiem piemīt radikāļu saistīšanas aktivitāte, un, lai noteiktu attiecības starp šiem parametriem, tika veikta korelācijas analīze. Ekstraktu AA bieži vien ir saistīta ar fenolu sastāvdaļām.

Visiem mārrotku lapu ekstraktiem tika konstatētas pozitīvas ciešas korelācijas (3.21. tab.). Līdzīgus rezultātus ar ļoti ciešu korelāciju starp fenolu saturu un AA parādījuši līčijas (*L. Chinensis* Sonn.) ziedi dažādos šķīdinātājos (Liu et al., 2009). Mārrotku genotipa G105 sakņu ekstraktiem tika noteikta tikai vidēji cieša korelācija ( $r = 0,56$ ) starp KFS un antiradikālo aktivitāti (DPPH<sup>·</sup>).

3.21. tabula / Table 3.21

**Korelācijas matrica starp AA, KFS un KFIS dažādu šķīdinātāju mārrotku un lupstāju ekstraktos / Correlation matrix among the AA, TPC and TFC in the horseradish and lovage extract of different solvent**

Augu materiāls / Plant material	Parametri / Parameters	KFS / TPC	KFIS / TFC	DPPH <sup>·</sup>	ABTS <sup>·+</sup>
Mārrotku lapas / Horseradish leaves	KFS / TPC	<b>1</b>	×	×	×
	KFIS / TFC	0.99**	<b>1</b>	×	×
	DPPH <sup>·</sup>	0.78**	0.86**	<b>1</b>	×
	ABTS <sup>·+</sup>	0.85**	0.83**	0.99**	<b>1</b>
	RS / RP	0.96**	0.94**	0.96**	0.93**
Lupstāju lapas / Lovage leaves	KFS / TPC	<b>1</b>	×	×	×
	KFIS / TFC	0.83**	<b>1</b>	×	×
	DPPH <sup>·</sup>	0.82**	0.80**	<b>1</b>	×
	ABTS <sup>·+</sup>	0.86**	0.84**	0.87**	<b>1</b>
	RS / RP	-0.45*	-0.54**	-0.51**	-0.30

\*\* Nozīmīgums / Significant at  $p < 0.01$ ; \* Nozīmīgums / Significant at  $p < 0.05$

Arī lupstāju lapu ekstraktiem kopumā bija vērojama līdzīga iezīme (3.21. tab.). Savukārt lupstāju kātu ekstraktiem KFIS demonstrēja ļoti ciešu pozitīvu korelāciju ( $r = 0,93$ ,  $p < 0,01$ ) ar reducēšanas spēju, kamēr KFS tā bija tikai cieša ( $r = 0,72$ ,  $p < 0,01$ ). Tas ļauj domāt, ka lupstāju kātu ekstraktiem reducēšanas spēju lielā mērā nodrošina tajos esošie flavonoīdi. Lupstāju sakņu ekstraktiem reducēšanas spējai ar KFS tika konstatēta cieša korelācija ( $r = 0,76$ ,  $p < 0,01$ ), bet ar KFIS – vidēji cieša ( $r = 0,69$ ,  $p < 0,01$ ), kas varētu liecināt, ka šim augu materiālam flavonoīdiem nav reducēšanas spējas. Pētījumu rezultāti parādīja, ka mārrotku sakņu ekstraktos pastāv vidēja un vāja korelācija starp KFS un AA.

Kopumā konvencionālajai ekstrakcijai visiem analizētajiem ekstraktiem bija pozitīvas ciešākas korelācijas starp fenolu savienojumu saturu un AA, salīdzinot ar ekstraktiem, kuriem izmantota Soksleta metode. Izmantojot konvencionālo ekstrakciju, cieša korelācija tika novērota mārrotku genotipu G12B ( $r = 0,79$ ) un G106 ( $r = 0,83$ ) sakņu ekstraktiem starp fenolu savienojumu saturu un AA, kā arī visiem lupstāju paraugu ekstraktiem starp fenolu savienojumu saturu un netiešo AA. Tas ļauj nosakot vienu rādītāju, diezgan precīzi prognozēt otra mainīgā parametru.

Tajā pašā laikā, izmantojot Soksleta ekstrakcijas metodi, lupstāju paraugu fenolu savienojumi demonstrēja pozitīvu ciešu korelāciju ar antiradikālo aktivitāti (DPPH<sup>·</sup>, ABTS<sup>·+</sup>), kamēr ar netiešo AA – negatīvu un ļoti vāju. Tas nozīmē, ka pēc Soksleta ekstrakcijas lupstāju fenolu savienojumi nedarbojas kā netiešie antioksidanti, bet to ArA ir cieši saistīta ar fenolu savienojumu saturu. Līdzīgas iezīmes vērojamas arī mārrotku sakņu ekstraktiem, kur korelācija starp fenolu savienojumu saturu un AA bija vāja pozitīva un vāja negatīva atkarībā no analizētā mārrotku genotipa. Tas, iespējams, ir saistīts ar šo ekstrakciju principu atšķirību, kur, lietojot šķīdinātājus viršanas temperatūrā (Soksleta ekstrakcija), notiek fenolu savienojumu termiskā degradācija, un līdz ar to vērojama vājāka korelācija.

Šie rezultāti ļauj domāt, ka dažu testēto ekstraktu AA var attiecināt uz ne-fenola savienojumu klātbūtni. Vēl vairāk, vienkāršie fenoli, lai gan tie nav efektīvi antioksidanti, reaģē ar *Folin-Ciocalteus* reaģentu (Hung et al., 2005). Tāpat jāņem vērā, ka dažādi fenolu savienojumi var demonstrēt dažādas AA atkarībā no to struktūras, kā arī to var ietekmēt citu savienojumu sinerģiskais vai antagonistiskais efekts, kas ir neapstrādātos ekstraktos (Nićiforović et al., 2010). Tādējādi KFS var izmantot, lai prognozētu to AA ar pieņemamu precizitāti (Kong et al., 2010).

#### **Kopsavilkums.**

Labākie rezultāti tika iegūti, izmantojot Soksleta ekstrakcijas metodi ar izteikti polāriem šķīdinātājiem (3.22. tab.).

3.22. tabula / Table 3.22

**Piemērotākie šķīdinātāji mārūtkiem un lupstājiem, lai iegūtu ekstraktus ar augstāku fenolu saturu un AA / *The most suitable solvents for obtaining extracts from horseradish and lovage with higher phenol content and AA***

<b>Analizētie parametri / Analyzed parameters</b>	<b>Lielākie iegūtie rezultāti / Major results</b>	<b>Ekstrakta augu materiāls / Extract of the plant material</b>	<b>Ekstrakcijas šķīdinātājs / Extraction solvent</b>	<b>Ekstrakcijas metode / Extraction method</b>
KFS / TPC	3192.96 mg GAE 100 g <sup>-1</sup> sausnas / DW	Mārūtku lapas	ET	SOXE
KFIS / TFC	8929.22 mg CE 100 g <sup>-1</sup> sausnas / DW	Mārūtku lapas	ET	SOXE
DPPH <sup>·</sup>	168.76 mM TE 100 g <sup>-1</sup> sausnas / DW	Lupstāju lapas	EWA	SOXE
ABTS <sup>·+</sup>	623.42 mM TE 100 g <sup>-1</sup> sausnas / DW	Lupstāju kāti	EW	SOXE
RS /RP	9616.67 mg AAE 100 g <sup>-1</sup> sausnas / DW	Mārūtku lapas	ET	SOXE

Palielinoties šķīdinātāja polaritātei, KFS palielinājās vidēji 30 reizes, KFIS – trīs reizes. Šī tendence bija izteiktāka Soksleta ekstrakcijai. Arī AA būtiski ietekmēja izmantotā šķīdinātāja polaritāte, kā arī izvēlēta ekstrakcijas metode. Ar katru analīžu metodi lielāko ArA konstatēja citam augu materiālam, un, palielinoties šķīdinātāja polaritātei, tā vidēji palielinājās četras reizes. Savukārt reducēšanas spēja palielinājās vidēji sešas reizes, palielinoties šķīdinātāja polaritātei (no 0 HE, līdz 5,2 ET).

#### **Summary**

*The best results were obtained by using the Soxhlet extraction method with pronouncedly polar solvents (Table 3.22).*

*With the solvent polarity increasing, KFS on average increased 30 times, and KFIS increased three times. This tendency was more pronounced for Soxhlet extraction. AA was also significantly affected by the polarity of the solvent used, as well as by the chosen extraction method. With each method of analysis, the greatest ArA was found for a different plant material, and upon increasing the polarity of the solvent, it increased four times on average. The reducing power increased six times on average with the solvent polarity increasing (from 0 HE to 5.2 ET).*

### 3.3.2. Mikroviļņu un ultraskaņas ietekmes izvērtējums / *Assessment of the effect of microwave and ultrasound*

Ultraskaņas viļņu un mikroviļņu ietekmes izvērtējumam tika izvēlētas ultraskaņas (UAE) un mikroviļņu (MAE) veicinātas ekstrakcijas metodes. Tās ir ekstrakcijas, kurām viens no galvenajiem variējamiem parametriem ir ekstrakcijas ilgums. Balstoties uz iepriekš izdarītajiem secinājumiem par labāko šķīdinātāju mārrutku un lupstāju paraugiem, šajās abās ekstrakcijās kā vienīgais ekstrakcijas šķīdinātājs tika izmantots etanols. UAE laikā skaņas viļņi ar mehānisku vibrāciju iedarbojas uz cietām vielām un šķidrumiem, kā rezultātā var paplašināties cietas vielas šūnu sienīņu poras, kas uzlabo difūzijas procesu un palielina masas pārvietošanu (Angela, Meireles, 2009). Šie eksperimenti tika veikti apkārtējās vides temperatūrā. Savukārt MAE laikā mikroviļņu ietekmē tiek pārrauti cietās vielas šūnapvalki, kā rezultātā tiek atbrīvoti fitosavienojumi (Wu et al., 2012). Šajā ekstrakcijas veidā procesu ietekmē arī paaugstināta temperatūra (50–77 °C).

Analizējot atsevišķus parametrus, abām metodēm nebija vērojamas vienādas tendences, turklāt katrs pētītais augu materiāls demonstrēja atšķirīgas iezīmes.

Daudzfaktoru dispersijas analīzes rezultāti rādīja, ka gan ekstrakcijas ilgums, gan arī ekstrakcijas metode ir būtiski faktori, kas ietekmē KFS, KFIS, kā arī to AA ( $p < 0,05$ ).

**Ultraskaņas veicināta ekstrakcija (UAE).** Ultraskaņas veicinātas ekstrakcijas ietekmē lupstāju lapu ekstraktiem bija vērojama sakarība starp KFIS un ABTS<sup>•+</sup> katjonu saistīšanas spēju (11. pielikums), kur, palielinot ekstrakcijas ilgumu no 15 s līdz 45 s, KFIS palielinās 3,30 reizes, bet ABTS<sup>•+</sup> ArA 1,86 reizes. Turpinot pagarināt ekstrakcijas laiku, abi šie parametri samazinās un nākamo lēcieni demonstrē, ekstrahējot 1800 s, kur KFIS palielinās 3,03 reizes, bet ABTS<sup>•+</sup> ArA 1,99 reizes, salīdzinot ar ekstraktiem, kuri ekstrahēti 15 s. Tas ļauj prognozēt, ka lupstāju lapās esošie flavonoīdi darbojas kā radikāļu (ABTS<sup>•+</sup>) saistītāji.

Arī mārrutku lapu ekstraktiem bija vērojama sakarība starp KFS un KFIS, kur salīdzinot ekstraktus ar izmantoto 15 s un 1800 s ilgumu, KFS palielinājās 4,63 reizes, bet KFIS 4,89 reizes (3.16. att.), kamēr ar AA šiem palielinājumiem, nebija vērojamas nekādas sakarības (3.23. tab.).

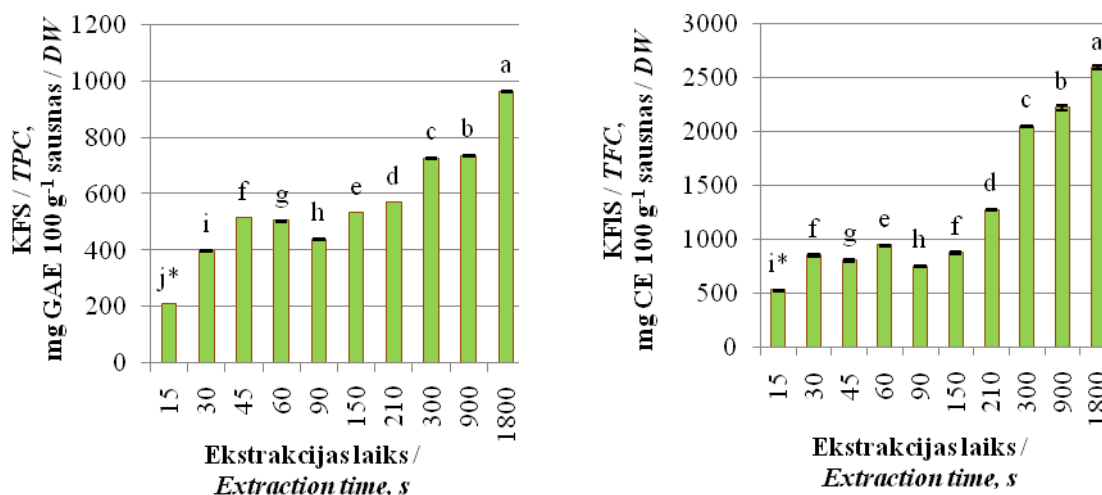
Flavonoīdu īpatsvars KFS svārstījās no 0,45 līdz 0,87, un, sākot no 210s ekstrakcijas ilguma, bija vērojama tendence, pagarinoties ekstrakcijas ilgumam, palielināties arī šai proporcijai.

Šādu tendenci apliecina arī 3.16. attēlā redzami KFS un KFIS rezultāti.

Pēc 60 s ultraskaņas viļņu ietekmes, lupstāju kātu ekstraktiem bija izteikta tendence sasniegt lielākos KFS un KFIS, kā arī netiešo AA rezultātus (11. pielikums). Tas liecina par to, ka šis ekstrakcijas ilgums ir piemērotākais fenolu savienojumu, jo īpaši flavonoīdu, kuri darbojas kā izteikti netieši antioksidanti, ekstrakcijai no lupstāju kātiem. Savukārt ArA lupstāju kātu ekstraktos savu augstāko vērtību sasniedza pēc 210 s ekstrakcijas ultraskaņas viļņu ietekmē, kas liecina par to, ka ir nepieciešams ilgāk iedarboties ar ultraskaņas viļņiem uz lupstāju kātu paraugiem, lai atbrīvotu antiradikālos savienojumus.

Pārējiem analizētajiem paraugiem nebija vērojamas nekādas sakarības starp analizētajiem parametriem un ultraskaņas viļņu iedarbības ilgumu.

Salīdzinot ar pārējiem mārrutku un lupstāju paraugiem, visaugstāko reducēšanas spēju (3185,80 mg AAE 100 g<sup>-1</sup> sausas) konstatēja lupstāju lapu ekstraktā, kurš bija pakļauts ultraskaņas viļņu ietekmei 45 s.



**3.16. att. UAE ekstrakcijas ilguma ietekme uz KFS un KFIS mērrutku lapu ekstraktos /**

**Fig. 3.16. Effect of UAE extraction time on the TPC and TFC of horseradish leaves extract:**

\* Vērtības, kas atzīmētas ar vienu un to pašu burtu, nav būtiski atšķirīgas savā starpā, ja  $p < 0.05$  / Mean values marked with the same letter do not differ significantly at  $p < 0.05$ .

Ekspierimentu rezultāti ļauj atkārtoti pārliecināties, ka fitosavienojumi dažādu augu un pat viena auga dažādu daļu šūnās atšķiras kvantitatīvi un kvalitatīvi, kā arī pēc saistīšanās veida, jo katram augu materiālam augstākie rezultāti un aktivitātes tika konstatētas pēc dažādiem ekstrakcijas ilgumiem. Tā, piemēram, izmantojot UAE lupstāju lapu (11. pielikums) un mērrutku lapu (3.7. att. un 3.23. tab.) ekstrakcijai, augstāko KFS un KFIS, kā arī netiešo AA konstatēja attiecīgi pēc 45 s un 1800 s ekstrakcijas ilguma.

3.23. tabula / Table 3.23

**UAE ilguma ietekme uz AA mērrutku lapu ekstraktos /**  
**Effect of UAE time on content of AA of horseradish leaves**

Ekstrakcijas laiks / Extraction time, s	DPPH <sup>•</sup> , mM TE 100 g <sup>-1</sup> DW	ABTS <sup>•+</sup> , mM TE 100 g <sup>-1</sup> DW	RS / RP, mg AAE 100 g <sup>-1</sup> DW
15	49.62±0.50 <sup>b*</sup>	7.48±0.31 <sup>c</sup>	1853.31±18.10 <sup>b</sup>
30	80.10±0.80 <sup>g</sup>	9.84±0.47 <sup>f</sup>	2799.59±28.48 <sup>f</sup>
45	58.06±0.58 <sup>f</sup>	9.91±0.18 <sup>f</sup>	2189.98±21.42 <sup>d</sup>
60	54.94±0.55 <sup>d,e</sup>	11.38±0.43 <sup>g</sup>	2125.20±21.49 <sup>d</sup>
90	45.32±0.45 <sup>a</sup>	2.56±0.09 <sup>a</sup>	1936.99±19.48 <sup>c</sup>
150	52.00±0.50 <sup>c</sup>	2.24±0.10 <sup>a</sup>	1970.86±19.27 <sup>c</sup>
210	49.74±0.52 <sup>b</sup>	4.11±0.05 <sup>b</sup>	1608.96±16.08 <sup>a</sup>
300	55.47±0.55 <sup>e</sup>	5.11±0.18 <sup>c</sup>	2480.85±24.59 <sup>e</sup>
900	53.85±0.54 <sup>d</sup>	6.18±0.10 <sup>d</sup>	2466.59±24.21 <sup>e</sup>
1800	53.68±0.56 <sup>d</sup>	12.59±0.13 <sup>h</sup>	2821.76±28.46 <sup>f</sup>

Dažādie burti vienā kolonnā apzīmē būtiski nozīmīgas atšķirības starp vērtībām (Tjūkija tests,  $p < 0,05$ ) / The different letters in the same column represents significant differences between values (Tukey's test,  $p < 0.05$ ).

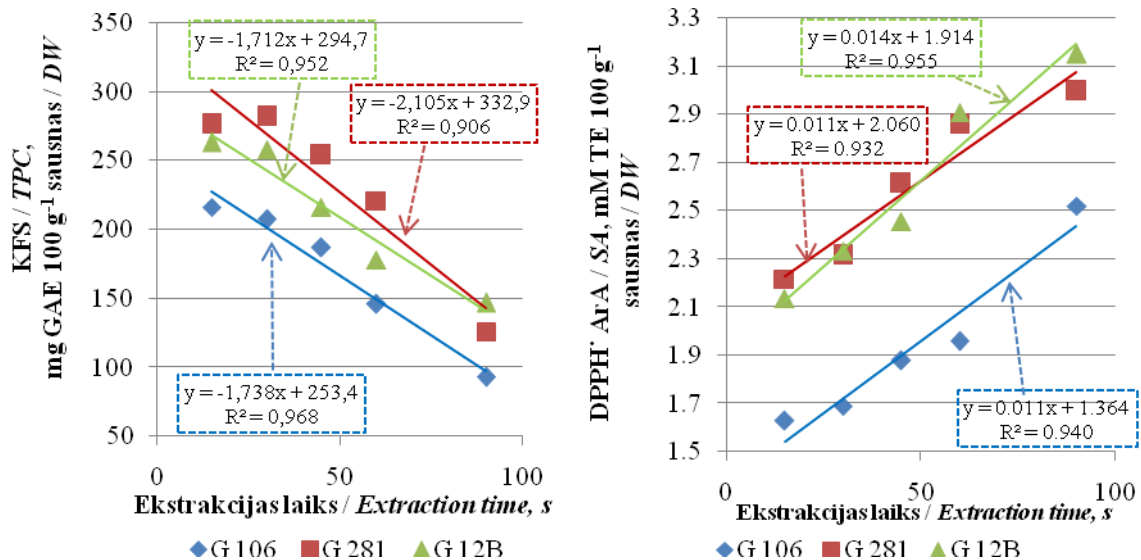
Mārrutku lapu ekstraktiem bija vērojama tendence, pieaugot UAE ilgumam, palielināties KFS un KFIS ( $r = 0,93$ ,  $p < 0,01$ ). Savukārt lupstāju sēkļu ekstraktiem augstākais KFS un KFIS saturs tika konstatēts, ekstrahējot 210 s, kamēr netiešo AA, palielinoties ekstrakcijas ilgumam no 15 līdz 1800 s, samazinājās 1,11 reizes.

Aplūkojot ultraskaņas viļņu ietekmi uz ekstraktu antiradikālo aktivitāti, vienīgi mārrutku lapu ekstraktiem ar abām analīžu metodēm parādījās viena iezīme, ka, izmantojot īsu ekstrakcijas laiku (līdz 60 s), ArA ir diezgan augsta, bet jau pēc 90 s vērojams šīs aktivitātes kritums (3.23. tab.). Visai pamanāms tas ir, izmantojot ABTS<sup>•+</sup> noteikšanas metodi, kur ArA samazinās 4,45 reizes, bet tālāk, pagarinot ekstrakcijas ilgumu, tā atkal pieaug.

Arī citu pasaules zinātnieku pētījumu rezultāti par ultraskaņas viļņu iedarbības ilguma ietekmi uz ekstraktu AA ir dažādi, kas ir atkarīgs no augu materiāla, un tas ir arī saskaņā ar šī pētījuma rezultātiem. Tā, piemēram, augstāko AA olīvkoku lapu ekstraktos ieguva pēc 40 min (eksperimentējot ekstrakcijas diapazonā no 20 līdz 60 min) (Şahin, Şamli, 2013), bet kazeņu lapu ekstraktos, palielinot ekstrakcijas ilgumu, palielinājās ABTS<sup>•+</sup> saistīšanas aktivitāte (Aybastier et al., 2013). Eksperimentos iegūtie un literatūrā atrodamie rezultāti liecina, ka katram augu materiālam ir nepieciešams pielāgot UAE apstākļus.

**Mikroviļņu veicināta ekstrakcija (MAE).** Atšķirībā no iepriekš apskatītās ekstrakcijas, mikroviļņu veicinātās ekstrakcijas rezultātos bija vērojamas izteiktas tendences, kuras izpaudās tieši atkarībā no ekstrakcijas ilguma.

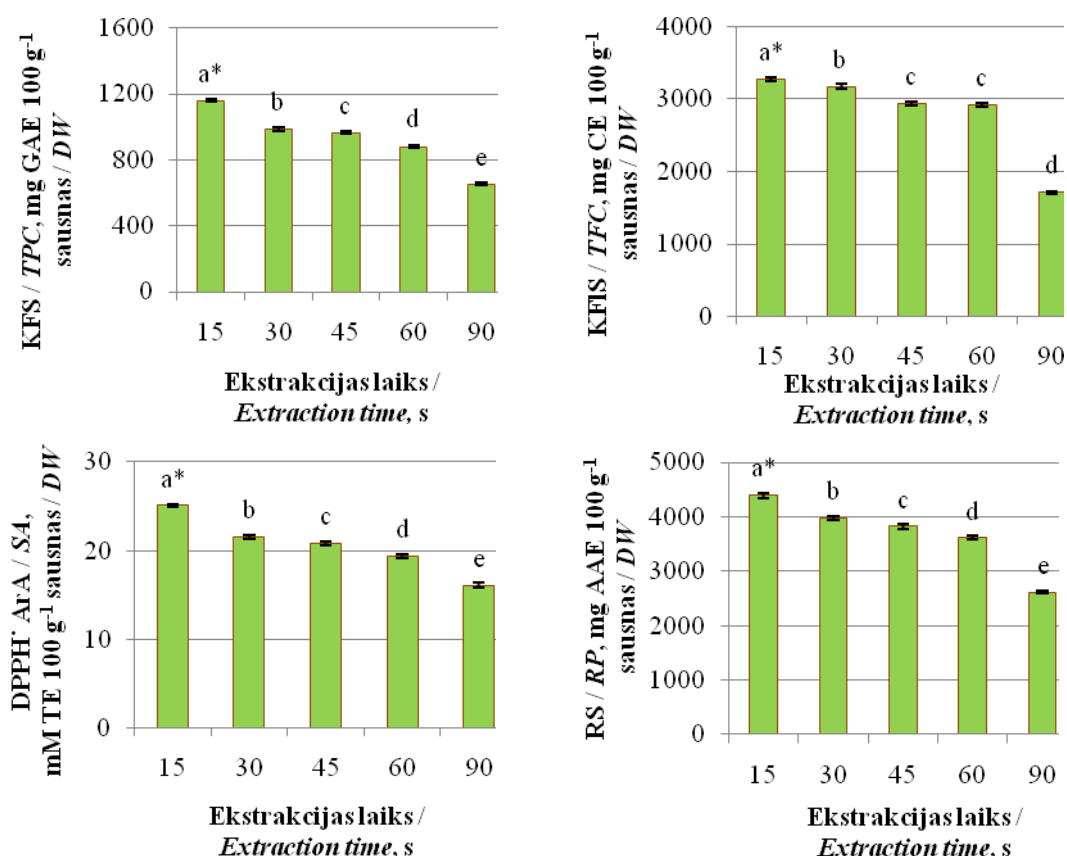
Īpaši izcēlās mārrutku genotipu G106 un G12B sakņu ekstrakti, kuros, pagarinoties ekstrakcijas ilgumam, KFS samazinājās attiecīgi 2,33 un 1,8 reizes (3.17. att.), bet DPPH<sup>•</sup> radikāļu saistīšanas aktivitāte palielinājās attiecīgi 1,55 un 1,47 reizes (3.17. att.).



3.17. att. MAE ekstrakcijas ilguma ietekme uz KFS un DPPH<sup>•</sup> ArA mārrutku sakņu ekstraktos /  
 Fig. 3.17. Effect of MAE extraction time on the TPC and scavenging activity of horseradish roots

Mārrutku saknēs esošie fenolu savienojumi sadalās ilgstošas mikroviļņu iedarbības rezultātā. Šiem fenolu savienojumiem nepiemīt izteikta ArA, bet kā antioksidanti darbojas mārrutku saknēs esoši savienojumi, kuri nepieder fenolu grupai. Pie kam šie ne-fenolu savienojumi ir cieši saistīti šūnapvalkos, un tikai pēc ilgākas apstrādes ar mikroviļņiem, tie atbrīvojas no kompleksajiem savienojumiem, nonākot ekstraktā, kur spēj darboties kā tiešie antioksidanti. Arī lupstāju lapu ekstraktu DPPH<sup>·</sup> radikāļu saistīšanas aktivitāti pozitīvi ietekmēja mikroviļņu iedarbība, un, pagarinoties ekstrakcijas ilgumam, 1,25 reizes palielinājās ArA (10. pielikums).

Mārrutku lapu ekstrakti izrādīja nedaudz atšķirīgu iezīmi, un, pagarinoties ekstrakcijas ilgumam, samazinājās visi analizētie parametri (KFS 1,77, KFIS – 1,91, ArA ar DPPH<sup>·</sup> metodi – 1,56, ar ABTS<sup>·+</sup> metodi – 6,77, bet reducēšanas spēja – 1,68 reizes) (3.18. att.). Lupstāju kātu ekstraktos, pagarinoties mikroviļņu iedarbības ilgumam, KFS un KFIS samazinājās attiecīgi 1,41 un 1,83 reizes (10. pielikums). Līdzīgas iezīmes ir vērojamas arī zemesriekstu mizu etanola ekstraktos (Ballard et al., 2010), kā arī, pagarinoties mikroviļņu iedarbības ilgumam, samazinās KFIS *Vitis vinifera* spiedpalieku ekstraktos (Casazza et al., 2010).



### 3.18. att. MAE ekstrakcijas ilguma ietekme uz fenolu savienojumu saturu un AA mārrutku lapu ekstraktos /

*Fig. 3.18. Effect of MAE extraction time on the content of phenolic compounds and AA of horseradish leaves*

\* Vērtības, kas atzīmētas ar vienu un to pašu burtu, nav būtiski atšķirīgas savā starpā, ja  $p < 0.05$  / Mean values marked with the same letter do not differ significantly at  $p < 0.05$ .



Līdzīgas tendences bija vērojamas arī lupstāju sakņu ekstraktos (11. pielikums). Vairākiem augu materiāliem, piemēram, olīvkoku lapu (Şahin, Şamli, 2013), kazeņu lapu (Aybastier et al., 2013) un vīnogu ievārījuma (Morelli, Prado, 2012) ekstraktos, ir novērota pretēja tendence – pieaugot ekstrakcijas ilgumam, palielinās KFS.

**Sakarības starp fenolu savienojumu saturu un AA mērrutku un lupstāju ekstraktos.** Ultraskaņas un mikroviļņu veicināto ekstrakciju kopējā korelācija starp fenolu savienojumu saturu un AA bija vidēji cieša. Tādas pašas iezīmes varēja vērot arī UAE mērrutku un lupstāju ekstraktiem kopā. Arī atsevišķiem pētītajiem augu materiāliem korelācijas svārstījās no ļoti vājas līdz vidēji ciešai, izņemot lupstāju saknēm bija vērojamas ļoti ciešas korelācijas starp šiem parametriem (12. pielikums).

Savukārt mikroviļņu veicinātas ekstrakcijas rezultātā iegūtie ekstrakti kopumā demonstrēja ciešu korelāciju starp KFS un KFIS ( $r = 0,90$ ,  $p < 0,01$ ), kā arī vidēji ciešu korelāciju starp pārējiem parametriem, kas ir ievērojami ciešāka nekā ekstraktiem pēc ultraskaņas viļņu iedarbības. Visi pētītie mērrutku un lupstāju paraugu ekstrakti, kuri tika pakļauti mikroviļņu iedarbībai, demonstrēja ļoti ciešu pozitīvu korelāciju.

Viena no ciešākajām korelācijām vērojama mērrutku lapu ekstraktiem starp fenolu savienojumu saturu un AA (3.24. tab.), kas ir skaidrojams ar izteikto tendenci samazināties analizēto parametru vērtībām, pagarinoties ekstrakcijas ilgumam. Vidēji ciešas negatīvas korelācijas demonstrē mērrutku genotipa GJ sakņu ekstrakti ar mikroviļņu veicināto ekstrakciju starp atsevišķiem parametriem.

3.24. tabula / Table 3.24

**Korelācijas matrica starp KFS, KFIS un AA mērrutku genotipa GJ lapu UAE un MAE ekstraktos / Correlation matrix between TPC, TFC and AA in UAE and MAE extracts of horseradish genotype GJ leaves**

	Parametri / Parameters	KFS / TPC	KFIS / TFC	DPPH <sup>·</sup>	ABTS <sup>·+</sup>
MAE	KFS / TPC	<b>1</b>	×	×	×
	KFIS / TFC	0.93**	<b>1</b>	×	×
	DPPH <sup>·</sup>	0.99**	0.89**	<b>1</b>	×
	ABTS <sup>·+</sup>	0.86**	0.79**	0.85**	<b>1</b>
	RS / RP	0.99*	0.97**	0.97**	0.86**
UAE	KFS / TPC	<b>1</b>	×	×	×
	KFIS / TFC	0.93**	<b>1</b>	×	×
	DPPH <sup>·</sup>	-0.10	-0.07	<b>1</b>	×
	ABTS <sup>·+</sup>	0.21	0.21	0.46*	<b>1</b>
	RS / RP	0.53**	0.58**	0.64**	0.58**

\* Nozīmīgums / Significant at  $p < 0.05$ , \*\* nozīmīgums / Significant at  $p < 0.01$ .

Mērrutku genotipa G281 sakņu mikroviļņu ekstraktiem bija ļoti cieša negatīva korelācija starp KFS un DPPH<sup>·</sup> AA ( $r = -0,86$ ). Arī lupstāju kātu ekstraktiem pēc mikroviļņu ekstrakcijas bija ļoti cieša negatīva korelācija starp KFS un reducēšanas spēju ( $r = -0,74$ ,  $p < 0,01$ ) un KFIS un reducēšanas spēju ( $r = -0,83$ ,  $p < 0,01$ ), kamēr ļoti cieša pozitīvā korelācija bija starp KFS un KFIS ( $r = 0,91$ ,  $p < 0,01$ ) un abām antiradikālajām aktivitātēm ( $r = 0,95$ ,  $p < 0,01$ ).

**Kopsavilkums.** UAE ietekmē nevienam no pētītajiem augu materiālu ekstraktiem nebija vērojama izteikta tendence kādam no parametriem palielināties vai samazināties atkarībā no ekstrakcijas ilguma, bet MAE rezultātos bija vērojamas izteiktas tendences, kuras izpaudās tieši atkarībā no ekstrakcijas ilguma. Mērrutku sakņu ekstraktiem, pagarinoties ekstrakcijas ilgumam, KFS samazinājās, bet ArA palielinājās. Savukārt pārējiem analizēto augu materiālu ekstraktiem, pagarinoties ekstrakcijas ilgumam, visi parametri samazinājās.

Salīdzinot ultraskaņas un mikroviļņu veicinātās ekstrakcijās iegūtos ekstraktus (3.25. tab.), vēlreiz var pārliecināties, ka nav iespējams noteikt universālu ekstrakcijas metodi un ilgumu visiem augu materiāliem.

3.25. tabula / Table 3.25

**Optimālais UAE un MAE ilgums mārrotkiem un lupstājiem, lai iegūtu ekstraktus ar augstāku KFS saturu un AA / *Optimal time of UAE an MAE for horseradish and lovage to obtain extracts with higher phenol content and AA***

Analizētie parametri / Analyzed parameters	Lielākie iegūtie rezultāti / Major results	Ekstrakta augu materiāls / Extract of the plant material	Ekstrakcijas ilgums / Extraction time	Ekstrakcijas metode / Extraction method
KFS / TPC	2053,16 mg GAE 100 g <sup>-1</sup> sausas / DW	Lupstāju kāti / Lovage stems	60 s	UAE
KFIS / TFC	3277,71 mg CE 100 g <sup>-1</sup> sausas / DW	Mārrotku lapas / Horseradish leaves	15 s	MAE
DPPH <sup>·</sup>	82,24 mM TE 100 g <sup>-1</sup> sausas / DW	Lupstāju lapas / Lovage leaves	15 s	UAE
ABTS <sup>·+</sup>	33,66 mM TE 100 g <sup>-1</sup> sausas / DW	Lupstāju lapas / Lovage leaves	15 s	MAE
RS / RP	4392,31 mg AAE 100 g <sup>-1</sup> sausas / DW	Mārrotku lapas / Horseradish leaves	15 s	MAE

Analizējot 3.22. un 3.26. tabulu, redzams, ka abos variantos augstākais KFIS un reducēšanas spēja ir mārrotku lapu ekstraktos, bet DPPH<sup>·</sup> saistīšanas aktivitāte – lupstāju lapu ekstraktos. Arī salīdzinot katru parametru, augstāki rezultāti ir iegūti, izmantojot Soksleta ekstrakcijas metodi.

#### **Summary**

*Under the effect of UAE, none of the examined plant material extracts showed a pronounced tendency of increase or decrease of any parameter depending on the extraction length. Meanwhile, MAE results showed pronounced tendencies, which manifested themselves depending on the extraction length. For horseradish root extracts, with the extraction length increasing, KFS declined, while ArA increased. For all other analyzed plant material extracts, all parameters declined with the extraction length increasing.*

*Extracts obtained by using ultrasound- and microwave-assisted extraction have been compared (Table 3.26).*

*By analyzing Tables 3.22 and 3.26, it can be seen that in both variants the highest KFIS and reducing power are in horseradish leave extracts, and the highest DPPH scavenging activity is in lovage leave extracts. Also by comparing each parameter, bigger results are obtained by using the Soxhlet extraction method.*

### **3.3.3. Ekstrakcijas temperatūras un spiediena ietekmes izvērtējums / Assessment of the effect of the extraction temperature and pressure**

Temperatūras un spiediena ietekmes izvērtējumam uz fenolu savienojumiem lupstāju lapu un kātu un mārrotku sakņu ekstraktos tika izmantotas vairākas ekstrakcijas metodes – konvencionālā ekstrakcija, ekstrakcija Soksleta iekārtā, zemkritiskā stāvokļa ekstrakcija, kā arī paātrinātā ekstrakcija, kā šķīdinātāju izmantojot etanolu. Konkrēti ekstrakcijas apstākļi ir aprakstīti 2.3. nodaļā 2.5. tabulā. Līdz šim nav pieejami ziņojumi

par zemkritiskā stāvokļa un paātrinātās ekstrakcijas izmantošanu antioksidantu ekstrakcijai no mārrutkiem un lupstājiem.

Daudzfaktoru dispersijas analīzes rezultāti parādīja, ka gan augu materiāls, gan arī ekstrakcijas metode ir būtisks faktors, kas ietekmē KFS, KFIS, kā arī to AA ( $p < 0,05$ ).

**CONV un SOXE efektivitātes salīdzinājums.** Šīs abas ekstrakcijas metodes atšķiras pēc saviem darbības principiem. CONV notiek istabas temperatūrā, savukārt SOXE tiek veikts nepārtrauktas darbības iekārtā paaugstinātā temperatūrā, un ekstraktvielas no parauga tiek izskalotas ar tīru šķīdinātāju. Arī parauga un šķīdinātāja proporcija SOXE ir vairāk nekā piecas reizes lielāka. Šīs ir galvenās atšķirības, kas ietekmē ekstraktu kvalitāti. Visos pētītajos paraugos, izmantojot SOXE, KFS ir lielāks (3.26. tab.), un lupstāju lapu ekstraktos KFS ir pat 1,68 reizes lielāks nekā šo pašu augu ekstraktos, kas iegūti ar CONV metodi.

3.26. tabula / Table 3.26

**Fenolu savienojumu satura atšķirības dažādos temperatūras un spiediena režīmos ekstrahētos mārrutku un lupstāju ekstraktos /**  
*Variations in content of phenolic compounds in horseradish and lovage extracts obtained under different temperature and pressure regimes*

Augu materiāli / <i>Plant material</i>	Ekstrakcijas metode / <i>Extraction method</i>	KFS / TPC, mg GAE 100 g <sup>-1</sup> sausnas / DW	KFIS / TFC, mg CE 100 g <sup>-1</sup> sausnas / DW	KFIS:KFS / TFC:TPC
Mārrutku saknes / <i>Horseradish root</i>	CONV	90.91±3.06 <sup>a,b*</sup>	252.57±14.00 <sup>a,b</sup>	0.44
	SOXE	185.31±3.43 <sup>b,c</sup>	170.28±12.04 <sup>a,b</sup>	0.11
	SUB	232.97±17.02 <sup>c</sup>	299.68±14.46 <sup>b</sup>	0.15
	ASE	397.14±31.89 <sup>d</sup>	438.80±17.08 <sup>c</sup>	0.13
Lupstāju kāti / <i>Lovage stem</i>	CONV	618.06±30.76 <sup>e</sup>	816.93±12.31 <sup>e</sup>	0.15
	SOXE	716.15±30.25 <sup>e,f</sup>	5521.79±64.37 <sup>j</sup>	0.49
	SUB	632.95±11.63 <sup>e</sup>	526.00±12.58 <sup>c,d</sup>	0.26
	ASE	651.18±18.87 <sup>e</sup>	534.81±11.79 <sup>c,d</sup>	0.09
Lupstāju lapas / <i>Lovage leaves</i>	CONV	784.30±14.38 <sup>f</sup>	2591.12±70.36 <sup>h</sup>	0.38
	SOXE	2099.74±60.89 <sup>h</sup>	8577.94±107.71 <sup>k</sup>	0.47
	SUB	3221.42±99.18 <sup>i</sup>	4247.01±54.99 <sup>i</sup>	0.15
	ASE	1605.67±25.60 <sup>g</sup>	4268.81±43.07 <sup>i</sup>	0.31

\*Dažādie burti vienā kolonnā apzīmē būtiski nozīmīgas atšķirības starp vērtībām (Tjūkija tests,  $p < 0,05$ ) / *The different letters in the same column represents significant differences between values (Tukey's test,  $p < 0.05$ ).*

CONV – konvencionālā ekstrakcija / *conventional extraction*, SOXE – Soksleta ekstrakcija / *Soxhlet extraction*, SUB – zemkritiskā ekstrakcija / *subcritical extraction*, ASE – paātrinātā ekstrakcija / *accelerated solvent extraction*.

KFIS abiem lupstāju paraugiem bija vērojamas līdzīgas iezīmes kā KFS (3.27. tab.). Izmantojot SOXE, lupstāju kātiem KFIS bija 5,76 reizes, bet lupstāju lapām 2,31 reizes lielāks nekā ekstraktos, kas iegūti ar CONV metodi. Tas skaidrojams ar faktu, ka augstas temperatūras veicina cietās vielas šķīdības palielināšanos šķīdinātājā, kā arī ekstrakcijas iznākuma palielināšanos, līdz ar to panākot augstāku masas pārneses ātrumu, kā rezultātā notiek šķīdinātāja ieplūšana cietās vielas materiālā un palielinās savienojumu desorbija (Angela, Meireles, 2009). Tomēr mārrutku saknēs esošie flavonoīdi atšķirīgi reaģēja uz paaugstināto temperatūru, un mārrutku sakņu ekstraktos KFIS, izmantojot SOXE, samazinājās par 32%. Atšķirīgās KFIS izmaiņas analizētajos ekstraktos varētu skaidrot ar dažādu flavonoīdu savienojumu klātbūtni dažādos augos un ar to kompleksajām īpašībām. Rezultāti liecina, ka daļa mārrutku saknēs esošo flavonoīdu paaugstinātā temperatūrā ir termiski nestabili. Tā kā literatūrā nav pilnīgu datu par mārrutku ķīmisko sastāvu, nav zināms, kuri ir šie savienojumi.

Reducēšanas spēja lupstāju kātu un mārrotku sakņu ekstraktos, kas iegūti, izmantojot SOXE, bija attiecīgi 5,89 un 2,39 reizes lielāka, nekā ekstrahējot ar CONV metodi (3.27. tab.). Lupstāju kātiem šādā temperatūrā bija arī lielāks KFS un KFIS, kas ļauj domāt, ka reducēšanas spēja nodrošina fenolu savienojumi, tajā skaitā arī flavonoīdi. Bet mārrotku sakņu gadījumā šo aktivitāti varētu radīt kādi citi fenolu savienojumi, ne tikai flavonoīdi. Savukārt lupstāju lapu SOXE ekstraktos reducēšanas spēja bija 5,45 reizes mazāka nekā ekstraktos, kas iegūti, izmantojot CONV metodi. Lupstāju lapu ekstraktu KFS un KFIS rezultātu palielinājums augstākā temperatūrā liecina, ka lupstāju lapās esošajiem fenolu savienojumiem mazāk piemīt reducēšanas spēja.

Tāpat kā KFS, arī ArA visos pētītajos augu ekstraktos, izmantojot šķīdinātāju paaugstinātā temperatūrā, bija lielāka nekā istabas temperatūrā (3.28. tab.). DPPH<sup>•</sup> radikāļu saistīšanas aktivitāte, izmantojot SOXE, bija līdz pat 5,93 reizēm (lupstāju lapu ekstraktos), ABTS<sup>•+</sup> saistīšanas aktivitāte līdz pat 4,86 reizēm (mārrotku sakņu ekstraktos) lielāka nekā šo pašu augu CONV ekstraktos. Analizētie KFS un KFIS rezultāti parāda, ka šo augu ekstraktos antiradikālā aktivitāte piemīt fenolu savienojumiem.

3.27. tabula / Table 3.27

**AA atšķirības dažādos temperatūras un spiediena režīmos iegūtos mārrotku un lupstāju ekstraktos / Variations in AA of horseradish and lovage extracts obtained under different temperature and pressure regimes**

Augu materiāli / Plant material	Ekstrakcijas metode / Extraction method	DPPH <sup>•</sup> , mM TE 100 g <sup>-1</sup> , sausnas / DW	ABTS <sup>•+</sup> , mM TE 100 g <sup>-1</sup> , sausnas / DW	RS / RP, mg AAE 100 g <sup>-1</sup> , sausnas / DW
Mārrotku saknes / Horseradish root	CONV	5.49±0.21 <sup>a*</sup>	4.40±0.11 <sup>a,b</sup>	1967.13±110.06 <sup>e,f</sup>
	SOXE	12.05±0.37 <sup>a,b,c,d</sup>	25.78±1.69 <sup>d,e</sup>	6675.64±125.19 <sup>g</sup>
	SUB	11.23±1.55 <sup>a,b,c</sup>	6.52±0.90 <sup>a,b</sup>	846.77±37.38 <sup>a</sup>
	ASE	14.53±0.84 <sup>b,c,d,e</sup>	9.57±2.96 <sup>a,b,c</sup>	950.77±57.87 <sup>a,b</sup>
Lupstāju kāti / Lovage stem	CONV	16.77±0.67 <sup>b,c,d,e</sup>	40.52±0.61 <sup>f</sup>	1394.24±91.32 <sup>d</sup>
	SOXE	93.96±4.38 <sup>h</sup>	145.64±4.84 <sup>h</sup>	9600.46±189.48 <sup>h</sup>
	SUB	20.38±6.99 <sup>e,f</sup>	13.23±3.63 <sup>b,c</sup>	1039.86±106.28 <sup>a,b,c</sup>
	ASE	21.72±0.68 <sup>e,f</sup>	17.97±1.41 <sup>c,d</sup>	1315.75±78.55 <sup>c,d</sup>
Lupstāju lapas / Lovage leaves	CONV	19.78±0.96 <sup>d,e,f</sup>	74.46±2.64 <sup>g</sup>	6643.20±151.12 <sup>g</sup>
	SOXE	137.05±2.81 <sup>i</sup>	406.94±9.01 <sup>j</sup>	1219.99±95.44 <sup>b,c,d</sup>
	SUB	148.72±3.24 <sup>j</sup>	159.60±3.24 <sup>i</sup>	9971.14±133.24 <sup>i</sup>
	ASE	83.76±3.86 <sup>g</sup>	151.63±3.41 <sup>h,i</sup>	9492.01±128.57 <sup>h</sup>

\*Dažādie burti vienā kolonnā apzīmē būtiski nozīmīgas atšķirības starp vērtībām (Tjūkija tests,  $p < 0,05$ ) / The different letters in the same column represents significant differences between values (Tukey's test,  $p < 0,05$ ).

CONV – konvencionālā ekstrakcija / conventional extraction, SOXE – Soksleta ekstrakcija / Soxhlet extraction, SUB – zemkritiskā stāvokļa ekstrakcija / subcritical extraction, ASE – paātrinātā ekstrakcija / accelerated solvent extraction.

**SOXE un SUB efektivitātes salīdzinājums.** Abās šajās ekstrakcijas metodēs izmanto šķīdinātāju, kura temperatūra ir tuvu tā viršanas temperatūrai, vienīgi SUB notiek paaugstinātā spiedienā ( $1.1 \times 10^7$  Pa). Izmantojot SUB, lupstāju lapu un mārrotku sakņu ekstraktiem KFS bija lielāks, nekā lietojot SOXE (3.27. tab.). Šo atšķirību ir ietekmējis spiediena palielinājums, jo tā ietekmē tiek bojāta augu šūnu sienīņu struktūra, tā kļūst caurlaidīgāka (Dörnenburg, Knorr, 1995; Rastogi et al., 2007), un rezultātā palielinās masas pārneses ātrums cietas vielas ekstrakcijas procesā

(Rastogi et al., 2007). Savukārt lupstāju kātu ekstraktos spiediena ietekmē KFS bija mazāks nekā SOXE ekstraktos.

Izmantojot SUB, paaugstinātais spiediens veicināja šķīdinātāja piekļūšanu vakuolās glabātajiem flavonoīdiem (Naczk, Shahidi, 2003), un rezultātā KFIS mārrotku sakņu ekstraktos bija par 76% lielāks nekā SOXE (3.27. tab.). Lupstāju lapu un kātu SUB ekstraktos KFIS bija mazāks nekā SOXE ekstraktos (attiecīgi par 90% un 50%,). Spiediena izmaiņām seko šķīdinātāja polaritātes samazinājums, kas var traucēt ekstrahēt izteikti polārus savienojumus (Henderson, 2010), un tas savukārt liecina, ka lupstāju lapas un kāti satur polārus flavonoīdu klases savienojumus. Literatūrā ir atrodami dati, ka čemurziežu augos (pētersīļos un selerijās) ir atrasts lielāks daudzums flavonu (apigenīns un luteolīns) (Spencer, 2005). Savukārt mārrotku saknēs tāpat kā citos krustziežu dzimtas augos (brokoļos, ziedkāpostos un Briseles kāpostos) varētu būt mazāk polāro flavonolu – kvercetinā, kaempferola un mircetinā (Spencer, 2005). Krustziežu dzimtas augos (kāļos un brokoļos) atrodas vairāk flavonolu (Spencer, 2005), kuru aglikoniem un glikozīdiem ir salīdzinoši lielākas molekulārmases, un tie sānu ķēdēs ir saistīti ar dažādiem savienojumiem (Ko et al., 2014). Līdz ar to ir izskaidrojams, kādēļ flavonoīdu ekstrakcijai no mārrotku saknēm bija nepieciešams paaugstināts spiediens.

Savukārt ArA lupstāju kātu un mārrotku sakņu SUB ekstraktos bija pat par 78% mazāka nekā šo pašu augu SOXE ekstraktos. Izmantojot SUB ekstrakciju, lupstāju kātu ekstraktos izpaužas vienota iezīme, ka visi rādītāji samazinās, ja ekstrahē 80 °C un  $1.1 \times 10^7$  Pa spiedienā. Mārrotku sakņu SUB ekstraktiem antiradikālā aktivitāte bija mazāka, neraugoties uz to, ka KFS un KFIS bija lielāka. Tas skaidri apliecina, ka šie fenolu savienojumi nedarbojas kā antioksidanti. Lupstāju lapu ekstraktos kā radikāļu katjonu saistītāji (ABTS<sup>+</sup>) aktīvi varētu darboties flavonoīdi, bet pārējie fenolu savienojumi – ļoti izteikti kā netiešie antioksidanti, un mazāk izteikti kā brīvo radikāļu saistītāji (DPPH<sup>·</sup>).

Ekstrakcijai izmantojot SUB metodi, lupstāju lapu ekstraktu reducēšanas spēja bija pat 7 reizes lielāka nekā pēc SOXE (3.28. tab.), kas liecina, ka šo aktivitāti nodrošina fenolu savienojumi, tikai ne flavonoīdi. Savukārt lupstāju kātu un mārrotku sakņu ekstraktos spiediena ietekmē reducēšanas spēja samazinājās attiecīgi 1,89 un 1,87 reizes.

**SUB un ASE efektivitātes salīdzinājums.** Vienīgā šo ekstrakcijas metožu atšķirība ir temperatūra, jo SUB izmanto 80 °C, bet ASE – 110 °C. Ekstrahējot 110 °C temperatūrā, mārrotku sakņu ekstraktos KFS bija par 70% lielāks nekā SUB ekstraktā (3.27. tab.), kamēr lupstāju kātu ekstraktos tas būtiski nemainījās, kas skaidrojams ar faktu, ka dažādi augi satur atšķirīgus fenolu savienojumus (Naczk, Shahidi, 2004b, Naczk, Shahidi, 2006). Savukārt, lupstāju lapu ekstraktos izmantojot ASE, KFS bija par 50% mazāks, un tas nozīmē, ka temperatūras diapazonā starp 80 °C un 110 °C notiek lupstāju lapās esošo fenolu termiskā degradēšanās.

Ekstrahējot temperatūrā, kas pārsniedz etanola viršanas temperatūru, gan lupstāju lapu, gan lupstāju kātu ekstraktiem nebija būtiskas ( $p < 0,05$ ) atšķirības KFIS (3.27. tab.). Tiek ziņots, ka pētersīļos esošajam flavonu aglikonam apigenīnam ir mazāka molekulārmasa un tas ir bez sānu ķēdēm (Ko et al., 2014), kas jau zemākā temperatūrā ļauj ekstrahēt flavonoīdus no čemurziežu augiem, bet pārāk augstā temperatūrā iet bojā. Ekstrahējot 110 °C, mārrotku sakņu ekstraktos KFIS bija par 46% lielāks nekā izmantojot SUB metodi.

Visos pētītajos augu ekstraktos šādos ekstrakcijas apstākļos (110 °C) AA vērojamas tādas pašas iezīmes kā KFS (3.28. tab.). Lupstāju kātu un mārrotku sakņu ekstraktos

110 °C temperatūras ietekmē arī reducēšanas spēja bija līdz pat 26% lielāka nekā ekstrahējot 80 °C temperatūrā. Tas sakrīt ar KFS un KFIS tendenci šajos ekstraktos. Bet lupstāju lapu ekstraktos, izmantojot ASE, līdzīgi kā KFS, bija nedaudz mazāka gan reducēšanas spēja, gan brīvo radikāļu saistīšanas aktivitāte DPPH<sup>·</sup>, gan arī radikāļu katjonu sastīšanas aktivitāte ABTS<sup>•+</sup>. Līdz ar to var prognozēt, ka lupstāju lapu ekstraktos šādā temperatūrā notiek to fenolu savienojumu (bet ne flavonoīdu) termodegradācija, kuriem piemīt AA.

**Ekstrakcijas metožu efektivitātes apkopojums.** 3.28. tabulā ir apkopota ekstrakcijas metožu efektivitāte, kas katram parametram un augu materiālam ir atšķirīga.

Lupstāju kātu ekstraktiem bija vērojama iezīme, ka visiem analizētajiem parametriem visefektīvākā bija SOXE metode, arī mārrotku sakņu un lupstāju lapu ekstraktiem šī ekstrakcijas metode bija viena no efektīvākajām. Līdz ar to SOXE var izcelt kā efektīvu ekstrakcijas metodi fenolu savienojumu un dabīgo antioksidantu ekstrakcijai no mārrotku saknēm un lupstāju lapām un kātiem.

3.28. tabula / Table 3.28

**Ekstrakcijas metožu un parametru ranžējums /  
Ranking of extraction methods and parameters**

Rādītājs / Parameter	Mārrotku saknes / Horseradish roots	Lupstāju kāti / Lovage stems	Lupstāju lapas / Lovage leaves
KFS / TPC	CONV < SOXE < SUB < < ASE	CONV ≤ SUB < ASE < < SOXE	CONV < ASE < SOXE < < SUB
KFIS / TFC	SOXE < CONV < SUB < < ASE	SUB ≤ ASE < CONV < < SOXE	CONV < SUB ≤ ASE < < SOXE
DPPH <sup>·</sup>	CONV < SUB < SOXE < < ASE	CONV < SUB ≤ ASE < < SOXE	CONV < ASE < SOXE < < SUB
ABTS <sup>•+</sup>	CONV < SUB < ASE < < SOXE	SUB < ASE < CONV < < SOXE	CONV < ASE < SUB < < SOXE
RS / RP	SUB < ASE < CONV < < SOXE	SUB < ASE < CONV < < SOXE	SOXE < CONV < ASE < < SUB

CONV – konvencionālā ekstrakcija / *conventional extraction*, SOXE – Soksleta ekstrakcija / *Soxhlet extraction*, SUB – zemkritiskā ekstrakcija / *subcritical extraction*, ASE – paātrinātā ekstrakcija / *accelerated solvent extraction*.

**Sakarības starp fenolu savienojumu saturu un AA mārrotku lapās un lupstāju lapās un kātos.** Visi korelācijas koeficienti starp lupstāju lapu un kātu un mārrotku sakņu ekstraktu rādītājiem ir pozitīvi. Starp pētītajiem augu ekstraktiem visciešākā korelācija bija lupstāju kātu ekstraktu rādītājiem un korelācijas koeficienti starp fenolu savienojumu saturu un AA ir parādīti 3.29. tabulā. Savukārt starp lupstāju lapu un mārrotku sakņu ekstraktu rādītājiem tā svārstījās no ļoti ciešas pozitīvas līdz vidēji ciešai negatīvai. Lupstāju kātos esošajiem flavonoīdiem piemīt visai augsta AA, jo, skatoties pēc korelācijas koeficientiem, lupstāju kātu ekstraktu KFIS ļoti cieši pozitīvi korelē ar AA.

**Korelācijas matrica starp KFS, KFIS un AA etanola ekstraktos /  
Correlation matrix between TPC, TFC and AA in ethanol extracts**

<b>Ekstrakti / Extracts</b>	<b>Rādītājs / Parameter</b>	<b>KFS / TPC</b>	<b>KFIS / TFC</b>	<b>DPPH<sup>·</sup></b>	<b>ABTS<sup>·+</sup></b>
Mārrutku sakņu / Horseradish roots	KFS / TPC	<b>1</b>	×	×	×
	KFIS / TFC	0.57**	<b>1</b>	×	×
	DPPH <sup>·</sup>	0.82**	0.51**	<b>1</b>	×
	ABTS <sup>·+</sup>	0.11	-0.31	0.46*	<b>1</b>
	RS / RP	-0.30	-0.35	0.11	0.86**
Lupstāju kātu / Lovage stems	KFS / TPC	<b>1</b>	×	×	×
	KFIS / TFC	0.44**	<b>1</b>	×	×
	DPPH <sup>·</sup>	0.50**	0.98**	<b>1</b>	×
	ABTS <sup>·+</sup>	0.47**	0.98**	0.96**	<b>1</b>
	RS / RP	0.50**	0.99**	0.99**	0.98**
Lupstāju lapu / Lovage leaves	KFS / TPC	<b>1</b>	×	×	×
	KFIS / TFC	0.07	<b>1</b>	×	×
	DPPH <sup>·</sup>	0.94**	0.28	<b>1</b>	×
	ABTS <sup>·+</sup>	0.38*	0.90**	0.59**	<b>1</b>
	RS / RP	0.59**	-0.37*	0.48**	-0.15

\* Nozīmīgums / Significant at p<0.05, \*\* nozīmīgums / Significant at p<0.01

Lupstāju kātu ekstraktu AA savā starpā ir ļoti cieša pozitīva korelācija.

**Kopsavilkums.**

Šķīdinātājs vislielāko efektivitāti fenolu savienojumu iegūšanai uzrāda, sasniedzot savas kritiskās temperatūras robežu, bet, uzkarstot virs kritiskās robežas, tā efektivitāte samazinās. Tas ir saskaņā ar fenolu iespējamo tieksmi uz degradāciju, kā rezultātā tiek iegūti sadalīšanās produkti ar zemu molekulārmasu (Schieber et al., 2001; Ignat et al., 2010).

Tātad lupstājos esošie flavonoīdi ir līdzīgi saistīti augu šūnās, un tiem piemīt arī līdzīga termostabilitāte, kamēr mārrutku saknēs esošie flavonoīdi ir termiski diezgan stabili un no kompleksiem savienojumiem atdalās tikai temperatūras un spiediena ietekmē. Arī flavonoīdu saturam ir tendence palielināties augstākā temperatūrā, un lupstāju kātu ekstraktos KFIS ar Soksleta ekstrakcijas metodi ir pat 6 reizes lielāks, salīdzinot ar konvencionālo metodi. Savukārt paaugstinātā spiedienā visiem pētītajiem augu materiāliem nav būtiskas atšķirības, vai ekstrakcija notiek zem vai virs šķīdinātāja kritiskās temperatūras. Vienādā temperatūrā, palielinot spiedienu, ir vērojams KFIS samazinājums, ko varētu skaidrot ar flavonoīdu degradēšanos spiediena ietekmē līdzīgi kā KFS gadījumā. Neatkarīgi no ekstrakcijas metodes vislielākais KFS un KFIS tika konstatēts lupstāju lapās (3.30. tab.), bet vismazākais mārrutku saknēs.

Salīdzinot ekstraktu AA, bija vērojamas vienādas iezīmes, ka labāki rezultāti iegūti, izmantojot ekstrakciju paaugstinātā temperatūrā (paaugstinātas temperatūras ietekmē tiek sašķelti kompleksi savienojumi ar vājām antioksidantu spējām, bet rezultātā atbrīvojas savienojumi ar izteiktu radikāļu saistīšanas aktivitāti), bet sliktāki – ar konvencionālo ekstrakcijas metodi.

**Piemērotākās metodes, lai iegūtu mārrotku un lupstāju etanola ekstraktus ar augstāku fenolu saturu un AA / Suitable methods to obtain ethanol extracts of horseradish and lovage with higher phenol content and AA**

Analizētais parametrs / Analyzed parameters	Lielaie iegūtie rezultāti / Major results	Ekstrakta augu materiāls / Extract of the plant material	Ekstrakcijas metode / Extraction method
KFS / TPC	3221.42 mg GAE 100 g <sup>-1</sup> sausnas / DW	Lupstāju lapas / Lovage leaves	SUB
KFIS / TFC	8577.94 mg CE 100 g <sup>-1</sup> sausnas / DW	Lupstāju lapas / Lovage leaves	SOXE
DPPH <sup>·</sup>	148.72 mM TE 100 g <sup>-1</sup> sausnas / DW	Lupstāju lapas / Lovage leaves	SUB
ABTS <sup>·+</sup>	406.94 mM TE 100 g <sup>-1</sup> sausnas / DW	Lupstāju lapas / Lovage leaves	SOXE
RS / RP	9971.14 mg AAE 100 g <sup>-1</sup> sausnas / DW	Lupstāju lapas / Lovage leaves	SUB

SOXE – Soksleta ekstrakcija / Soxhlet extraction, SUB – zemkritiskā ekstrakcija / subcritical extraction.

### Summary

The solvent shows the greatest effectiveness for obtaining phenolic compounds upon reaching its critical temperature limit, but, upon exceeding the critical limit, its effectiveness falls. It is related to the potential propensity to degradation of phenols, which results in obtaining decomposition products with a low molecular mass (Schieber et al., 2001; Ignat et al., 2010).

Therefore, the flavonoids in lovage are similarly trapped in plant cells and also possess similar thermal stability, while the flavonoids in horseradish roots are thermally rather stable, and separate from complex compounds only under the influence of temperature and pressure. The flavonoid content also has a tendency to increase in a higher temperature, and in lovage stem extracts KFIS with the Soxhlet extraction method is as much as 6 times greater compared to the conventional method. Under increased pressure, none of the examined plant materials show significant differences whether the extraction is performed below or above the solvent's critical temperature. At the same temperature, with increased pressure, a decline of KFIS is observed, which may be explained by flavonoid degradation under pressure similarly as with KFS. Regardless of the extraction method, the greatest KFS and KFIS were found in lovage leaves (Table 3.31), the lowest – in horseradish leaves.

Upon comparing the AA of the extracts, similar characteristics were observed: better results were obtained by using extraction in an elevated temperature (under the effect of elevated temperature, complex compounds with poor antioxidant properties are divided, resulting in the release of compounds with pronounced radical scavenging activity), and worse results were obtained with the conventional extraction method.

### 3.3. nodaļas kopsavilkums

Balstoties uz šī pētījuma rezultātiem, nav iespējams ieteikt vislabāko ekstrakcijas paņēmienu, kas derētu visiem augu materiāliem. To iespējams izskaidrot ar to, ka visi pētītie augu materiāli pēc savas bioloģiskās uzbūves ir atšķirīgi un fenolu savienojumi



tajos tiek sintezēti atkarībā no attiecīgo fermentu klātbūtnes vai arī saistīti dažādos veidos.

Kā jau vairākkārt tika uzsvērts – nav iespējams viennozīmīgi pateikt kura ekstrakcijas metode un kādi ekstrakcijas apstākļi būtu vislabākie mārrutku un lupstāju ekstraktu gatavošanai.

Apkopojot ekstrakcijas parametru labākos rezultātus, tos ir iespējams sagrupēt četros klasteros (3.31. tab.). Atsevišķā klasterī var nodalīt lupstāju kātu ekstraktu ar etanola/ūdens maisījumu pēc Soksleta metodes ar visiem lielākajiem analizētajiem parametriem.

3.31. tabula / Table 3.31

**Dažādos apstākļos ekstrahētu mārrutku un lupstāju ekstraktu sadalījums klasteros pēc fenolu savienojumu satura un AA / *Distribution of horseradish and lovage extracts obtained under different conditions in clusters by content of phenolic compounds and AA depending on the treatment***

Klasteri / Cluster	Augu materiāls / Plant material	Vidējās vērtības klasteros / The average value of clusters				
		KFS / TPC, mg GAE 100g <sup>-1</sup> sausnas / DW	KFIS / TFC, mg CE 100g <sup>-1</sup> sausnas / DW	DPPH, mM TE 100 g <sup>-1</sup> sausnas / DW	ABTS, mM TE 100 g <sup>-1</sup> sausnas / DW	RS / RP, mg GAE 100 g <sup>-1</sup> sausnas / DW
1	H_L_ET_SOXE, L_L_B1	20.12	3310.82	56.53	30.27	250.65
2	L_L_EWA_SOXE, L_L_S1	109.48	2495.25	22.42	96.55	503.13
3	L_S_EW_SOXE	1050.14	3977.58	95.36	623.42	7474.40
4	L_S_60_s_UAE, H_L_15_s_MAE, L_L_15_s_UAE, L_L_15_s_MAE, H_L_15_s_MAE	629.15	1217.01	29.04	43.31	2971.54

\* paraugu apzīmējuma atšifrējumu skatīt 2.3. apakšnodaļas 2.5. tabulā / designation of the sample codes see in Subchapter 2.3., Table 2.5.

Kā efektīvākais ekstrakcijas šķīdinātājs var tikt izraudzīts etanols un ekstrakcijas metode – Soksleta metode.

**Summary of Chapter 3.3.**

Based on the results of this research, it is not possible to recommend the best extraction method suitable for all plant materials. This can be explained by the fact that all examined plant materials are different in terms of their biological makeup, and phenolic compounds in them are synthesized depending on the presence of the respective ferments, or are trapped in different ways.

As previously underlined, it is not possible to unequivocally tell which extraction method and what extraction conditions would be the best for preparation of horseradish and lovage

By aggregating the best results of the extraction parameters, they can be grouped into four clusters (Table 3.32). Separated into an individual cluster can be lovage stem extract with an ethanol/water mixture in accordance with the Soxhlet method with all greatest analyzed parameters.

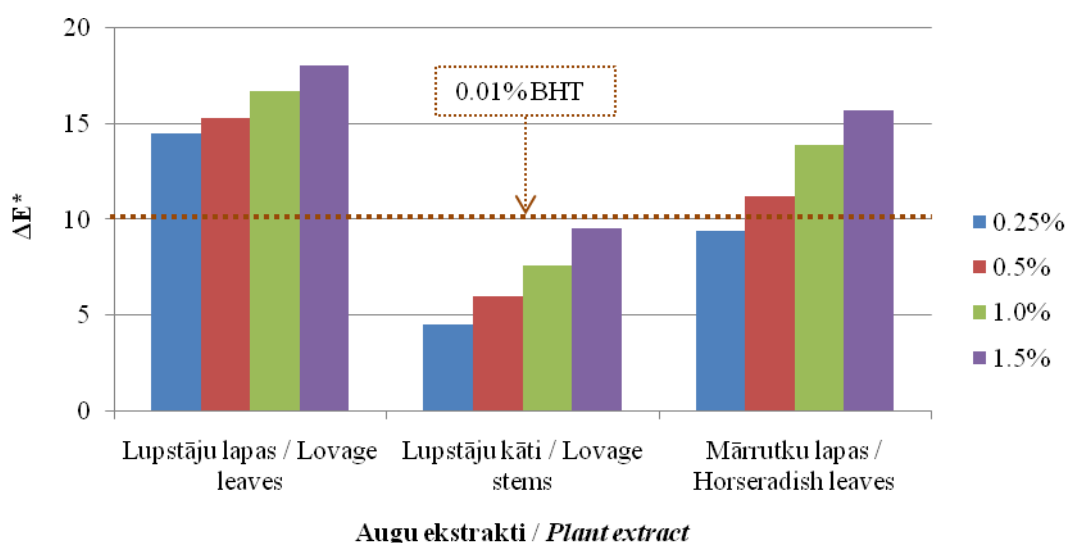
Ethanol is selected as the most effective extraction solvent, and the Soxhlet method is selected for extraction.

### 3.4. Pievienoto mārrutku un lupstāju ekstraktu ietekmes izvērtējums uz eļļas oksidēšanās kavēšanu / *Assessment of impact of horseradish and lovage extract additive on inhibition of oil oxidation*

Lai pārlicinātos par mārrutku un lupstāju dabīgo antioksidantu efektivitāti, veikts nerafinētas rapšu eļļas ar pievienotu mārrutku lapu un lupstāju lapu un kātu ekstraktu stabilitātes izvērtējums paaugstinātā temperatūrā, istabas temperatūrā gaismā un tumsā.

Dabīgajiem fenolu savienojumiem piemīt antioksidatīvas un antimikrobiālas īpašības, tos ir iespējams izmantot tehnoloģiskajām vajadzībām kā alternatīvu sintētiskām pārtikas piedevām. Pārtikas produktos fenolu savienojumi izrāda aizsargājošu un stabilizējošu ietekmi uz lipīdiem, pārtikas krāsu un garšu (Kammerer et al., 2011). Antikancerogēnās, antitrombotiskās, pretiekaisuma, pretmikrobu, pretdiabēta un antioksidanta īpašības ir aprakstītas, padarot šos savienojumus par ļoti vērtīgiem to biofunkcionālo sastāvdaļu dēļ. Fenolu savienojumu strukturālā daudzveidība saistīta ar atšķirībām to biofunkcionālajās īpašībās. Tādējādi, ekstraktiem no augiem, kas atšķiras pēc to fenolu profila, var būt dažādi fizioloģiskie efekti (Valls et al., 2009; Kammerer et al., 2011).

**Krāsa.** Lai pārbaudītu pievienoto augu (mārrutku lapu, lupstāju lapu un lupstāji kātu) ekstraktu ietekmi uz nerafinētas rapšu eļļas krāsu, eļļai tika pievienoti ekstrakti četrās dažādās koncentrācijās (0,25%; 0,5%; 1,0% un 1,5%). Pievienojot augu ekstraktus nerafinētai rapšu eļļai, izmainījās tās krāsa (3.19. att.). Palielinoties pievienotā ekstrakta koncentrācijai, proporcionāli samazinās  $L^*$ , kā arī  $b^*$  vērtība, tas nozīmē, ka eļļas paraugi kļūst tumšāki un tajos ir mazāk izteikts dzeltenais tonis.



3.19. att. Kopējās krāsu intensitātes izmaiņas eļļas paraugiem ar pievienotiem ekstraktiem un sintētisko antioksidantu /

*Fig. 3.19. Color intensity of oil samples with added extracts and synthetic antioxidant*

Tomēr lielākas kopējās krāsu izmaiņas, salīdzinot ar kontroles paraugu, bija eļļas paraugiem ar lupstāju lapu ekstraktiem, savukārt eļļas paraugam ar 0,01% BHT kopējā krāsu atšķirība no kontroles parauga bija  $\Delta E^*=11$ .

**Paaugstinātas temperatūras ietekmes izvērtējums.** Peroksīdu skaitlis raksturo peroksīdu un hidroperoksīdu koncentrāciju, kas veidojas pirmajos lipīdu oksidēšanās posmos. Peroksīdu skaitļa noteikšana ir viena no visplašāk izmantotajām pārbaudes metodēm, kas nosaka eļļas un tauku oksidācijas sākuma pakāpi (Gertz et al., 2000; Pukalskas et al., 2010). Pētījumā tika noteikta oksidēšanās pakāpe nerafinētai rapšu eļļai ar un bez antioksidantu piedevām, kas izturēta paaugstinātā temperatūrā ( $60 \pm 1$  °C) tumsā. Sākotnējais rapšu eļļas peroksīdu skaitlis bija 6,14 meq aktīvā  $O_2$   $kg^{-1}$  eļļas (jeb 3,07 mmol aktīvā  $O_2$   $kg^{-1}$  eļļas), kas ir saskaņā ar citiem pētījumiem par nerafinētu rapšu eļļu ar peroksīdu skaitli (3,9 mmol aktīvā  $O_2$   $kg^{-1}$  eļļas) (Kleinová et al., 2013). Latvijas Republikas MK noteikumi Nr. 461 „Prasības pārtikas kvalitātes shēmām, to ieviešanas, darbības, uzraudzības un kontroles kārtība” no 2014. gada nosaka, ka auksti spiestai nerafinētai rapšu eļļai peroksīdu skaitlis nedrīkst pārsniegt 15 meq aktīvā  $O_2$   $kg^{-1}$  eļļas. Pievienoto antioksidantu ietekme uz rapšu eļļas peroksīdu skaitli eksperimenta laikā paātrinātās oksidēšanās apstākļos parādīta 3.20. attēlā.

Kontroles paraugs likumā pieļauto peroksīdu skaitli sasniedza laikā no 1. līdz 3. uzglabāšanas dienai, bet paraugi ar pievienotajiem augu ekstraktiem 1% koncentrācijā –no 5. līdz 8. uzglabāšanas dienai, kas liecina, ka pievienotie ekstrakti kavē eļļas oksidēšanos.

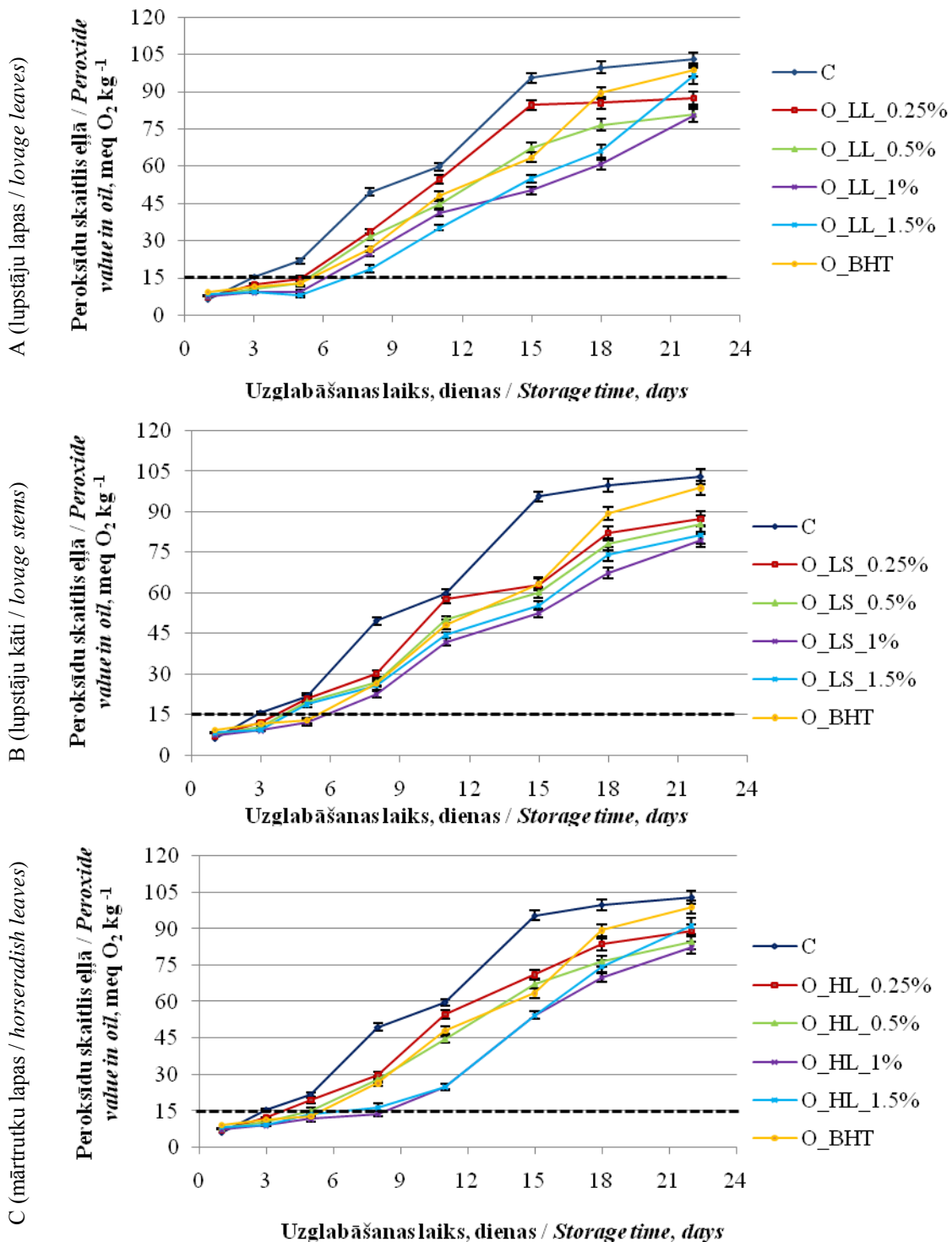
Paaugstinātas temperatūras ietekmē, kā arī salīdzinoši lielā nepiesātināto taukskābju divkārsšo saišu skaita rapšu eļļā dēļ peroksīdu skaitlis visos paraugos pieauga salīdzinoši strauji. Analizētie rapšu eļļas paraugi termostresa apstākļos savu lielāko peroksīdu skaitli sasniedza pēc 22 uzglabāšanas dienām, un augstākais peroksīdu skaitlis konstatēts kontroles paraugam ( $103 \pm 2$  meq  $O_2$   $kg^{-1}$  eļļas).

Pēc 5 uzglabāšanas dienām peroksīdu skaitlis kontrolei bija par 64% lielāks nekā eļļas paraugam ar 1,5% lupstāju lapu ekstraktu, un tā bija vislielākā atšķirība starp analizētajiem paraugiem šajā eksperimenta posmā.

Bija vērojama tendence – jo kvantitatīvi vairāk pievienots augu ekstrakts, jo lielāka atšķirība ar kontroles eļļas paraugu, kas parāda ekstraktu pozitīvo ietekmi uz eļļas stabilitāti, jo kavē oksidēšanās reakcijas.

Savukārt eļļas paraugi ar pievienotajiem lupstāju kātu un mārrotku lapu ekstraktiem, kā arī ar sintētisko antioksidantu (BHT) lielāko atšķirību ar kontroli demonstrēja pēc 8 uzglabāšanas dienām sasniedzot līdz pat 72% atšķirību, kas tika konstatēts eļļas paraugiem, ar pievienotu 1,0% mārrotku lapu ekstraktu. Turpmākajās uzglabāšanas dienās šī atšķirība būtiski ( $p < 0,05$ ) samazinās, un pēc 22 uzglabāšanas dienām atkal palielinās, sasniedzot atšķirību 23%, kuru konstatēja starp kontroli un rapšu eļļas paraugu ar pievienotu 1% lupstāju kātu ekstraktu. Peroksīdu skaitlis rapšu eļļas paraugam ar BHT pēc 22 uzglabāšanas dienām bija 98,87 meq aktīvā  $O_2$   $kg^{-1}$  eļļas, kas ir tikai par 4,09% mazāk nekā kontroles paraugam. Par līdzīgām iezīmēm pārliecinājās arī A. Pukalskas ar kolēģiem un konstatēja, ka rapšu eļļai pievienots BHT 80 °C būtiski ( $p < 0,05$ ) nekavē oksidēšanās reakcijas (Pukalskas et al., 2010).

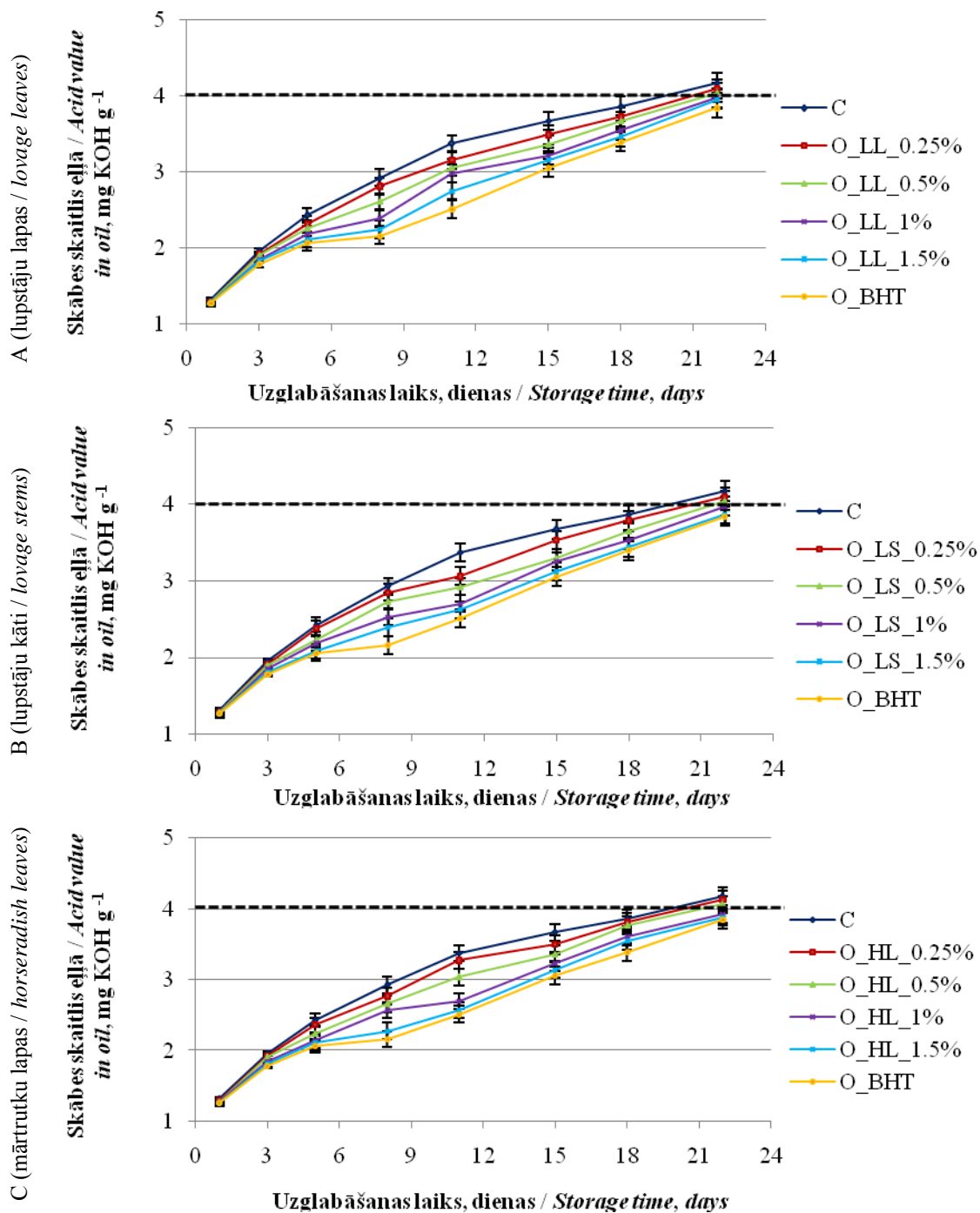
Pēc 22 uzglabāšanas dienām rapšu eļļas paraugiem ar pievienotajiem augu ekstraktiem bija vērojama kopīga iezīme, ka mazākās peroksīdu skaitļa vērtības bija eļļas paraugiem, kuriem pievienots 1% ekstrakts, turklāt lupstāju lapu un kātu, kā arī mārrotku lapu ekstraktu efektivitātei šādā koncentrācijā savā starpā nebija būtiskas atšķirības ( $p < 0,05$ ). Skābes skaitlis analizētajos eļļas paraugos svārstījās no 1,27 mg KOH  $g^{-1}$  eļļas eksperimentu sākumā, līdz 4,17 mg KOH  $g^{-1}$  eļļas pēc 22 uzglabāšanas dienām (3.21. att.).



\*\*\* Latvijas likumu akts maksimāli pieļautais peroksīdu skaits / *Latvian legislation, the maximum allowed by the peroxide value* (15 meq O<sub>2</sub> kg<sup>-1</sup> eļļas / oil) (MKN Nr. 461 no 2014. gada).

\* paraugu apzīmējuma atšifrējumu skatīt 2.3. apakšnodaļas 2.6. tabulā / *designation of the sample codes see in Subchapter 2.3., Table 2.6.*

**3.20. att. Rapšu eļļas peroksīdu skaitļa izmaiņas, uzglabājot tumšā 60±1 °C temperatūrā /**  
**Fig. 3.20. Changes of rapeseed oil peroxide value stored in dark at 60±1 °C temperature, meq O<sub>2</sub>kg<sup>-1</sup>**



\*\*\* Latvijas likumu aktos maksimāli pieļautais skābes skaitlis / Latvian legislation, the maximum allowed by the acid value (4 mg KOH g<sup>-1</sup> eļļas / oil) (MKN Nr.461 no 2014.gada).

\* paraugu apzīmējuma atšifrējumu skatīt 2.3. apakšnodaļas 2.6. tabulā / designation of the sample codes see in Subchapter 2.3., Table 2.6.

### 3.21. att. Rapšu eļļas skābes skaitļa izmaiņas, uzglabājot tumsā 60±1 °C temperatūrā /

Fig. 3.21. Changes of rapeseed oil acid value stored in dark at 60±1 °C temperature, mg KOH g<sup>-1</sup>

Visā uzglabāšanas laikā (22 dienas) analizētajos eļļas paraugos skābes skaitlis pieauga vidēji trīs reizes, bet šī perioda beigās tikai pusei no analizētajiem paraugiem šis lielums pārsniedza Latvijā spēkā esošo normatīvo aktu pieļauto robežu – 4 mg KOH g<sup>-1</sup> (MKN Nr. 461 no 2014. gada). Pētījuma vidū skābes skaitļu atšķirības bija visizteiktākās, bet pēc 22 uzglabāšanas dienām nebija būtiskas atšķirības (p<0,05), izņemot paraugu ar pievienotu BHT. Šādos paātrinātās uzglabāšanas apstākļos visiem paraugiem skābes skaitlis pieauga vienmērīgi. Arī zemesriekstu un saulespuķu eļļas paraugiem ar pievienotiem dabīgajiem antioksidantiem 40 uzglabāšanas dienu laikā skābes skaitlis tikai nedaudz palielinājās (Miguel et al., 2005). Pēc 22 uzglabāšanas dienām tumsā +60±1 °C temperatūrā mazākais skābes skaitlis tika konstatēts eļļas paraugam ar pievienotu sintētisko antioksidantu (BHT, 3,84 mg KOH g<sup>-1</sup> eļļas), bet lielākais – kontroles paraugam (4,17 mg KOH g<sup>-1</sup> eļļas).

Arī salīdzinot savā starpā skābes skaitli eļļas paraugos ar pievienotu lupstāju lapu, lupstāju kātu un mārrotku lapu ekstraktiem vienādā koncentrācijā, nebija vērojamas būtiskas atšķirības (p<0,05) visā uzglabāšanas periodā. Toties visiem paraugiem ar pievienotajiem ekstraktiem bija kopīga tendence – jo paraugā kvantitatīvi vairāk pievienotā ekstrakta, jo mazāks skābes skaitlis. Tas nozīmē, ka pievienoto augu ekstraktu ietekmē tiek kavēta tauku sadalīšanās un brīvo taukskābju veidošanās.

Salīdzinot savā starpā pievienoto ekstraktu efektivitāti pēc 22 uzglabāšanas dienām, redzams, ka mazāko skābes skaitli (3,87 mg KOH g<sup>-1</sup> eļļas) konstatēja eļļas paraugam ar 1,5% lupstāju kātu ekstraktu, kas bija par 7,34% mazāks nekā kontrolei. Arī eļļas paraugiem ar pievienotu 1,5% mārrotku lapu un 1,5% lupstāju lapu ekstraktiem skābes skaitlis bija attiecīgi par 6,92% un 5,18% mazāks nekā kontrolei. Līdz ar to var secināt, ka, uzglabājot tumsā paātrinātās novecošanas apstākļos, ekstrakti būtiski (p<0,05) samazina brīvo taukskābju veidošanos.

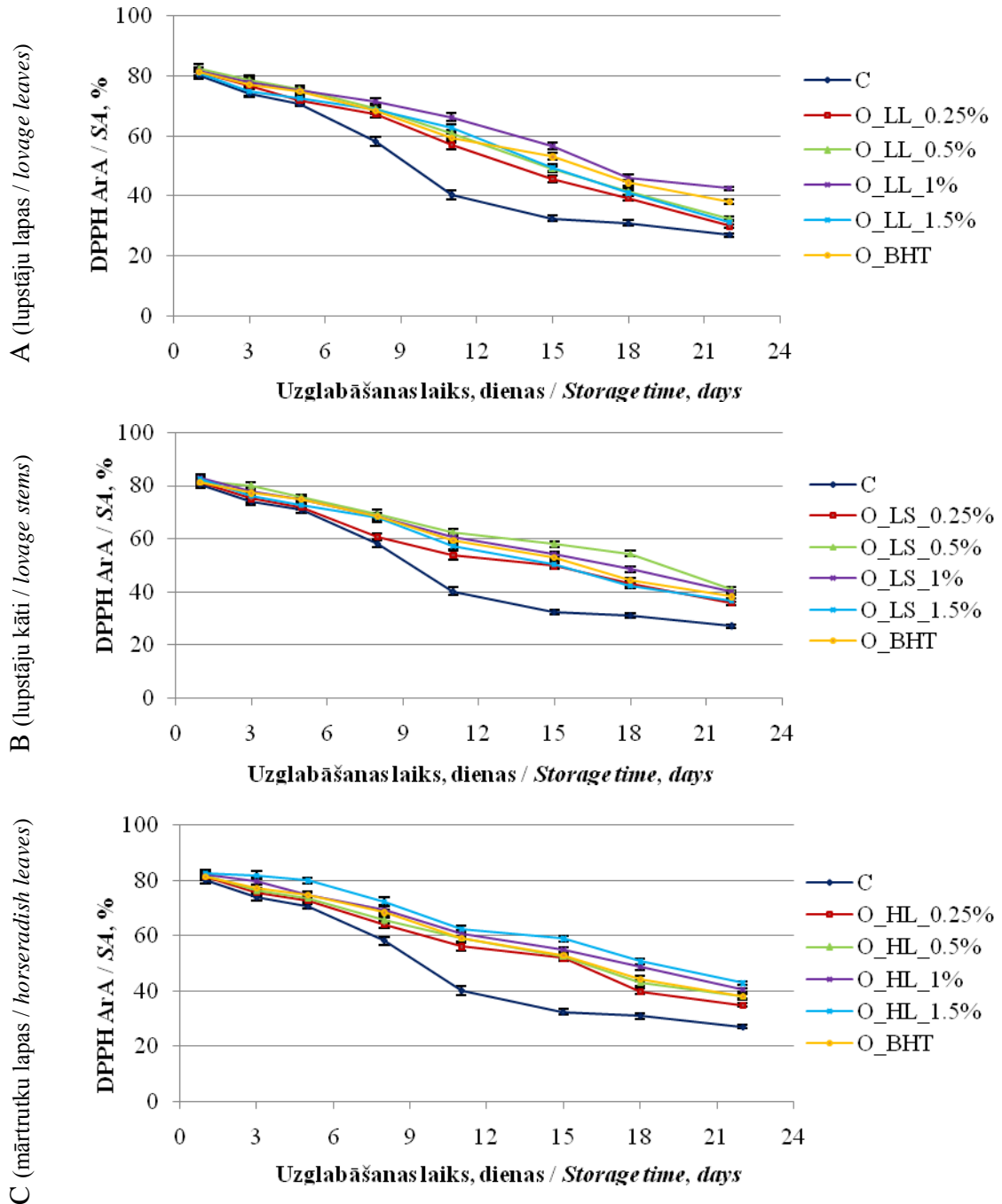
Eksperimentos tika konstatēts, ka no analizētajiem eļļai pievienotajiem ekstraktiem, visefektīvāk brīvo taukskābju veidošanos kavēja sintētiskais antioksidants (BHT), un pēc 22 uzglabāšanas dienām šim eļļas paraugam bija par 7,97% mazāks skābes skaitlis, kas liecina, ka BHT visefektīvāk darbojas šajā jomā.

Šajā eļļas antiradikālās aktivitātes noteikšanas metodē kā šķīdinātājs tiek izmantots izooktāns, kas ir nepolārs šķīdinātājs, un savu aktivitāti demonstrē izooktānā šķīstošie savienojumi. Eļļai tika pievienoti augu ekstrakti, kuri ekstrahēti ar polāru šķīdinātāju, tādēļ arī šajos eksperimentos ir iespējams noteikt tikai izooktāna frakcijā šķīstošo savienojumu aktivitāti.

Nerafinētas rapšu eļļas sastāvā jau ir savienojumi, kuri spēj saistīt DPPH radikāļus. Kā vienu no šādiem savienojumiem var minēt tokoferolu, kas ir sastopams lielākajā daļā auksti spiestu sēklu, augļu un riekstu eļļās, un tas var darboties kā dabīgais antioksidants, kura sinerģists visbiežāk ir askorbīnskābe (Rodrigues et al., 2015). Par tāda veida savienojumu klātbūtni varēja pārliecināties pētījuma gaitā, jo kontroles paraugam eksperimentu sākumā DPPH radikāļu sasaistīšanas aktivitāte bija 80,30% (3.22. att.). Šī aktivitāte, uzglabājot eļļu tumsā +60±1 °C temperatūrā jeb paātrinātās novecošanas apstākļos, strauji samazinājās 2,98 reizes un pēc 22 uzglabāšanas dienām bija tikai 26,95% (kontrolei).

Arī eļļas paraugos ar pievienotajiem lupstāju lapu, lupstāju kātu vai mārrotku lapu ekstraktiem vai ar BHT DPPH radikāļu saistīšanas aktivitāte uzglabāšanas laikā būtiski (p<0,05) samazinājās. Pēc 22 uzglabāšanas dienām eļļas paraugā ar 1% lupstāju lapu ekstraktu ArA samazinājās 1,92 reizes, kas bija vismazākais aktivitātes samazinājums, ArA bija 1,58 reizes augstāka, salīdzinot ar kontroli. Arī eļļas paraugos ar pievienotu 1,5% mārrotku lapu un 0,5% lupstāju kātu ekstraktu pēc 22 uzglabāšanas dienām

samazinājās attiecīgi 1,93 reizes un 1,98 reizes. 3.22.A attēlā, redzams, ka gandrīz visa eksperimenta gaitā eļļas paraugam ar pievienotu 1% lupstāju lapu ekstrakta saglabājās lielākā ArA, tāpat kā 3.22.B attēlā eļļas paraugam ar pievienotu 0,5% lupstāju kātu un 3.22.C attēlā eļļas paraugam ar 1,5% mārrutku lapu ekstrakta.



\* paraugu apzīmējuma atšifrējumu skatīt 2.3. apakšnodaļas 2.6. tabulā / designation of the sample codes see in Subchapter 2.3., Table 2.6.

**3.22. att. Rapšu eļļas antiradikālās aktivitātes izmaiņas, uzglabājot tumsā 60±1 °C temperatūrā /**

**Fig. 3.22. Changes of rapeseed oil scavenging activity stored in dark at 60±1 °C temperature, %**

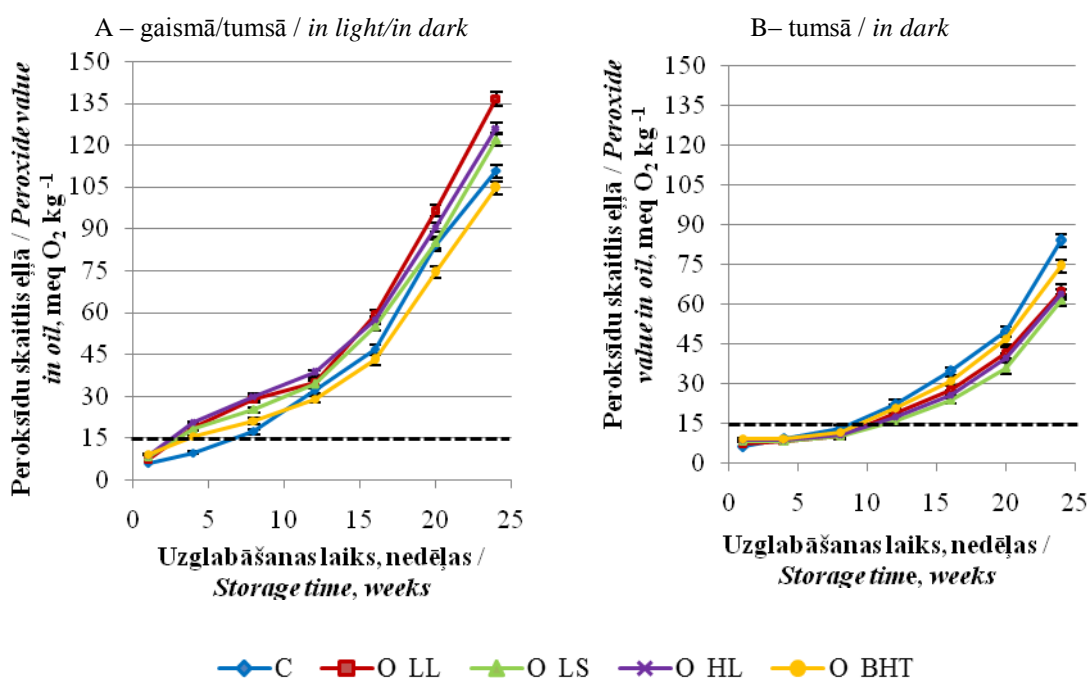


Savukārt pievienojot BHT nerafinētai rapšu eļļai, eksperimenta noslēgumā šī aktivitāte bija samazinājusies 2,13 reizes, kas izrādījās vidējs rādītājs. Salīdzinot visus analizētos eļļas paraugus ar sintētiskā antioksidanta efektivitāti, redzams, ka labākus rezultātus demonstrēja eļļas paraugi, bagātināti ar 1,5% un 1% mārrutku lapu, 0,5% un 1% lupstāju kātu, kā arī 1% lupstāju lapu ekstraktu.

#### Gaismas ietekmes izvērtējums.

Balstoties uz pētījuma rezultātiem, turpmākajiem eksperimentiem istabas temperatūrā tika analizēti nerafinētas rapšu eļļas paraugi ar pievienotu lupstāju lapu un kātu un mārrutku lapu ekstraktu 1% koncentrācijā.

Rapšu eļļas paraugiem ar pievienotajiem augu ekstraktiem gaismā/tumsā istabas temperatūrā savu negatīvo ietekmi demonstrēja hlorofils. Kā redzams 3.23. attēlā A, kontroles paraugam un paraugam ar sintētisko antioksidantu visa eksperimenta laikā peroksīdu skaitlis bija mazāks nekā eļļas paraugiem ar augu ekstraktiem.



\*\*\* Latvijas likumdošanā maksimāli pieļautais peroksīdu skaitlis / *Latvian legislation, the maximum allowed by the peroxide value* (15 meq O<sub>2</sub> kg<sup>-1</sup> eļļas / oil) (MKN Nr.461 no 2014.gada).

\* paraugu apzīmējuma atšifrējumu skatīt 2.3. apakšnodaļas 2.6. tabulā / *designation of the sample codes see in Subchapter 2.3., Table 2.6.*

**3.23. att. Rapšu eļļas peroksīdu skaitļa izmaiņas, uzglabājot 22±1 °C temperatūrā / Fig. 3.23. Peroxide value changes of rapeseed oil stored at 22±1 °C temperature, meq O<sub>2</sub> kg<sup>-1</sup>**

Salīdzinot savā starpā pievienoto augu ekstraktu efektivitāti uz eļļas oksidatīvo stabilitāti pēc 24 izturēšanas nedēļām, redzams, ka eļļas paraugam ar lupstāju kātu ekstraktu peroksīdu skaitlis ir 1,10 reizes lielāks nekā kontrolei, kas ir labākais rādītājs starp analizētajiem eļļas paraugiem ar pievienotajiem augu ekstraktiem. Savukārt eļļas paraugiem, kuriem pievienoti mārrutku lapu vai lupstāju lapu ekstrakti, peroksīdu skaitlis bija attiecīgi 1,14 un 1,23 reizes lielāks nekā kontrolei. Iespējams, gaismas ietekmē pievienotie ekstrakti sāk darboties jau kā prooksidanti un veicina peroksīdu veidošanos nerafinētā rapšu eļļā, ko veicina arī hlorofila klātbūtne, kas ir singletā



skābekļa veidošanās aģents. Literatūrā gandrīz nav atrodama informācija par pievienoto augu ekstraktu efektivitāti uz gaismā turētas eļļas oksidatīvo stabilitāti. Savukārt eļļas / ūdens emulsijai ar pievienotu hlorofilu, uzglabājot tumsā, lipīdu hidroperoksīdu daudzums gandrīz nemainās, bet gaismas ietekmē tas būtiski palielinās (Kim et al., 2012). Tajā pašā laikā nerafinētai rapšu eļļai ar pievienoto BHT (0,01%) peroksīdu skaitļa vērtība bija būtiski ( $p < 0,05$ ) mazāka nekā kontrolei. Tas nozīmē, ka BHT spēj kavēt nerafinētas rapšu eļļas oksidēšanos, ja eļļa tiek glabāta gaismā/tumsā istabas temperatūrā.

Salīdzinājumam uzglabājot eļļas paraugus istabas temperatūrā tumsā (3.23. att. B), redzams, ka pēc 4 nedēļām nav būtiskas atšķirības starp analizētajiem paraugiem. Turpinot novērojumus, redzamas būtiskas ( $p < 0,05$ ) peroksīdu skaitļa svārstības, un pēc 12 uzglabāšanas nedēļām lielāko peroksīdu skaitli ir sasniedzis kontroles paraugs (22,33 meq aktīvā  $O_2$   $kg^{-1}$  eļļas), kamēr mazākais skaitlis ir eļļas paraugam ar lupstāju kātu ekstraktu (15,73 meq aktīvā  $O_2$   $kg^{-1}$  eļļas).

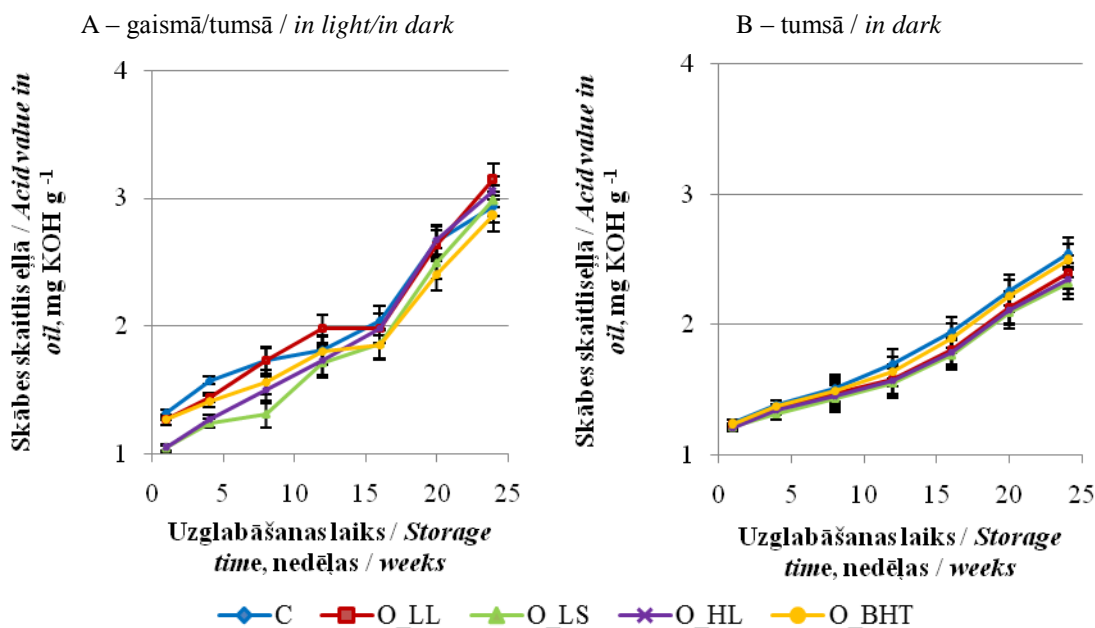
Eksperimenta beigās pēc 24 uzglabāšanas nedēļām tumsā istabas temperatūrā eļļas paraugam ar pievienoto BHT peroksīdu skaitlis bija par 11% mazāks nekā kontrolei, kamēr paraugiem ar augu ekstraktiem tas bija būtiski mazāks – ar lupstāju lapu ekstraktu par 22%, bet ar lupstāju kātu ekstraktu pat par 26%. Tas liecina, ka šādos uzglabāšanas apstākļos sintētiskais antioksidants tikai nedaudz spēj kavēt nerafinētas rapšu eļļas oksidēšanos, bet visi pievienotie augu ekstrakti efektīvi kavēja šo eļļas bojāšanās procesu.

Salīdzinot gaismā/tumsā un tumsā uzglabātos eļļas paraugus ar pievienotajiem antioksidantiem, Latvijas likumu aktos maksimāli pieļauto peroksīdu skaitli (15 meq aktīvā  $O_2$   $kg^{-1}$  eļļas) (MKN Nr. 461 no 2014. gada) vēlāk sasniedza tumsā glabātie eļļas paraugi ar pievienotajiem ekstraktiem (no 8. līdz 12. uzglabāšanas nedēļai), kas liecina, ka pievienotie ekstrakti kavē eļļas oksidēšanos. Gan tumsā, gan gaismā/tumsā uzglabāti kontroles paraugi, šo maksimāli pieļauto peroksīdu skaitli sasniedza no 4. līdz 8. uzglabāšanas nedēļai.

Arī brīvo taukskābju veidošanos gaismā/tumsā efektīvāk kavēja sintētiskais antioksidants, un pēc 24 uzglabāšanas nedēļām gaismā šajā eļļas paraugā skābes skaitlis bija 2,86 mg KOH  $g^{-1}$  eļļas (3.24. att. A). Starp eļļas paraugiem ar pievienotajiem ekstraktiem bija vērojama līdzīga tendence kā peroksīdu skaitlim, un efektīvāks brīvo taukskābju veidošanās kavētājs pēc 24 uzglabāšanas nedēļām gaismā/tumsā bija lupstāju kātu ekstrakts. Par to liecina šī eļļas parauga skābes skaitlis 2,98 mg KOH  $g^{-1}$  eļļas, kas būtiski ( $p < 0,05$ ) neatšķirās no kontroles. Šis eļļas paraugs bija izteiktāk dzeltens, mazāk izteikti zaļš, salīdzinot ar pārējiem analizētajiem paraugiem. Tas nozīmē, ka tajā, iespējams, ir mazāks hlorofila saturs, līdz ar to eļļa saglabā lielāku stabilitāti gaismas ietekmē.

Tumsā glabātos eļļas paraugos skābes skaitlis pieauga lēnāk nekā gaismas ietekmē. Kontroles paraugam pēc 24 uzglabāšanas nedēļām tika konstatēts lielākais skābes skaitlis (2,54 mg KOH  $g^{-1}$  eļļas), bet mazākais eļļas paraugam ar lupstāju kātu ekstraktu (2,32 mg KOH  $g^{-1}$  eļļas) (3.24. att. B). Starp eļļas paraugiem ar pievienotajiem augu ekstraktiem pētījuma vidū skābes skaitļa atšķirības bija visizteiktākās, bet pēc 24 uzglabāšanas nedēļām šīs atšķirības nebija būtiskas ( $p < 0,05$ ).

Ar Latvijā spēkā esošajiem normatīvajiem aktiem atļautā skābes skaitļa vērtība 4 mg KOH  $g^{-1}$  eļļas (MKN Nr. 461 no 2014. gada) uzglabāšanas laikā netika sasniegta, kas liecina, ka 24 nedēļu laikā istabas temperatūrā glabātā nerafinētā rapšu eļļā neveidojas tik daudz brīvo taukskābju.



\* paraugu apzīmējuma atšifrējumu skatīt 2.3. apakšnodaļas 2.6. tabulā / designation of the sample codes see in Subchapter 2.3., Table 2.6.

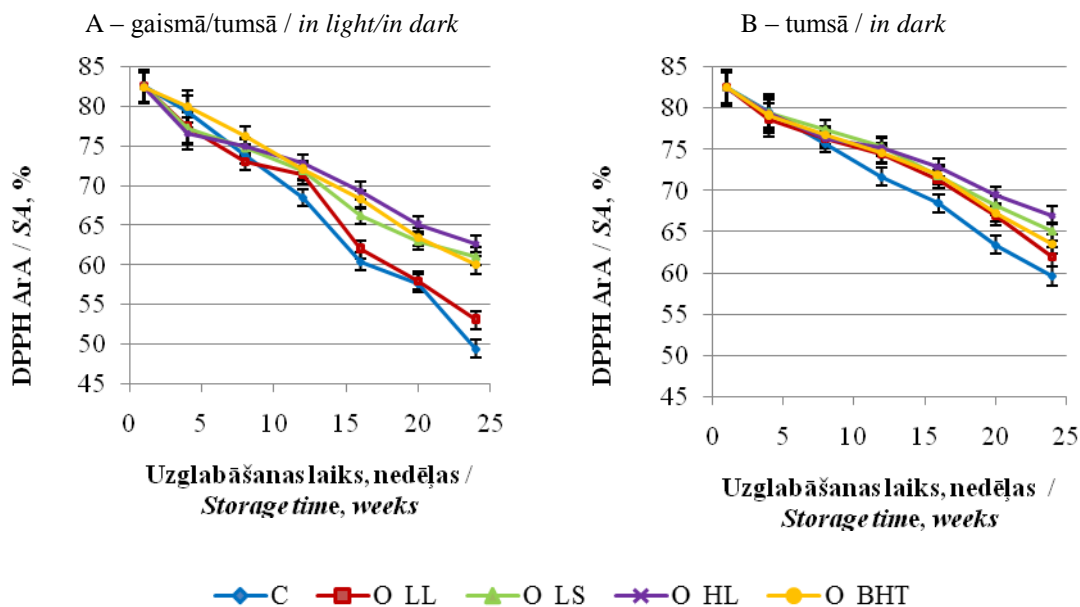
**3.24. att. Rapšu eļļas skābes skaitļa izmaiņas, uzglabājot 22±1 °C temperatūrā/  
Fig. 3.24. Acid value changes of rapeseed oil stored at 22±1 °C temperature,  
mg KOH g<sup>-1</sup>**

Eļļas ArA pēc 24 uzglabāšanas nedēļām gaismā kontrolei samazinājās no 82,83% līdz 49,45%, bet mārrutku lapu ekstrakta ietekmē eļļas paraugs šo aktivitāti saglabāja 62,67% apmērā, un tas bija pat labāk nekā eļļas paraugam ar pievienoto sintētisko antioksidantu (60,05%) (3.25. att. A).

Uzglabājot tumsā istabas temperatūrā, eļļas paraugiem ArA samazinājās lēnāk (3.25. att. B), salīdzinot ar gaismā uzglabātajiem, un pēc 24 uzglabāšanas nedēļām kontrolei bija 59,69% aktivitātes, bet pievienotā mārrutku lapu ekstrakta iespaidā eļļas paraugam tā saglabājās 67,06%.

Tumsā uzglabātai nerafinētai rapšu eļļai bez pievienotiem antioksidantiem eļļas ArA pēc 24 uzglabāšanas nedēļām bija 1,21 reizi augstāka nekā gaismā uzglabātai nerafinētai rapšu eļļai bez pievienotiem antioksidantiem.

Salīdzinot ar kontroli, nerafinētai rapšu eļļai pievienotais BHT efektīvi saglabāja eļļas antiradikālo aktivitāti, tomēr pievienotais mārrutku lapu ekstrakts šajā ziņā bija efektīvāks gan gaismā, gan tumsā uzglabātiem eļļas paraugiem. Neraugoties uz to, ka ArA eļļas paraugiem ar pievienotajiem augu ekstraktiem, uzglabājot gaismā istabas temperatūrā, bija augstāka, salīdzinot ar kontroli, tomēr gan peroksīdu, gan arī brīvo taukskābju veidošanos pievienotie augu ekstrakti pietiekami neaizkavēja. Iemesls varētu būt ekstraktos esošais hlorofils, kuru būtu vēlams atdalīt pirms pievienošanas eļļām.



\* paraugu apzīmējuma atšifrējumu skatīt 2.3. apakšnodaļas 2.6. tabulā / designation of the sample codes see in Subchapter 2.3., Table 2.6.

### 3.25. att. Rapšu eļļas antiradikālās aktivitātes izmaiņas, uzglabājot 22±1 °C temperatūrā /

*Fig. 3.25. Changes of rapeseed oil scavenging activity stored at 22±1 °C temperature, %*

### 3.4. nodaļas kopsavilkums

Mārrutku un lupstāju ekstrakti parāda antioksidantu aktivitāti, bet, lai pārliecinātos, ka tie arī efektīvi stabilizē lipīdus, mārrutku lapu, lupstāju lapu un kātu ekstrakti pievienoti nerafinētai rapšu eļļai.

Pirmajā posmā tika analizēta paaugstinātas temperatūras ietekme uz nerafinētas rapšu eļļas stabilitāti, uzglabājot eļļas paraugus tumsā 60±1 °C temperatūrā. Eksperimenta beigās eļļas paraugos būtiski ( $p < 0,05$ ) atšķīrās peroksīdu un hidroperoksīdu koncentrācija, bet ne brīvo taukskābju saturs.

Augu ekstrakti kavēja nerafinētas rapšu eļļas oksidēšanos, un lielāka spēja kavēt oksidēšanos šādos uzglabāšanas apstākļos bija eļļas paraugiem ar pievienotu lupstāju kātu ekstraktu 1% koncentrācijā (pēc 22 uzglabāšanas dienām peroksīdu skaitlis bija 79,26±1,94 meq O<sub>2</sub> kg<sup>-1</sup> eļļas).

Pēc 22 uzglabāšanas dienām, uzglabājot paaugstinātā temperatūrā tumsā, vislielākā eļļas antiradikālā aktivitāte saglabājās eļļas paraugam ar pievienotu 1,5% mārrutku lapu ekstraktu (42,86%) un 1% lupstāju lapu ekstraktu (42,56%), kas bija būtiski ( $p < 0,05$ ) augstāka, salīdzinot ar kontroles paraugu (26,95%), kā arī ar eļļas paraugu ar pievienotu BHT (38,14%).

Otrajā posmā, analizējot 22±1 °C temperatūrā uzglabātus eļļas paraugus, visefektīvākais starp pievienotajiem augu ekstraktiem bija lupstāju kātu ekstrakts. Uzglabājot tumsā, eļļas paraugi ar pievienotajiem ekstraktiem (1%) oksidējās būtiski ( $p < 0,05$ ) lēnāk nekā kontroles paraugs un paraugs ar sintētisko antioksidantu. Pēc 24 uzglabāšanas nedēļām vismazāk bija oksidējies eļļas paraugs ar pievienotu lupstāju kātu ekstraktu, un tā peroksīdu skaitlis bija 60,72 meq O<sub>2</sub> kg<sup>-1</sup> eļļas.

Savukārt istabas temperatūrā gan gaismā/tumsā, gan arī tumsā uzglabājamiem eļļas paraugiem lielāku DPPH radikāļu saistīšanas spēju pēc 24 nedēļām saglabāja eļļas paraugs ar pievienotu 1% mārrutku lapu ekstraktu un 1% lupstāju kātu ekstraktu, kas bija būtiski ( $p < 0,05$ ) augstāka, salīdzinot ar eļļas paraugu ar pievienotu BHT, kā arī kontroles paraugu.

Eļļai pievienotie ekstrakti visefektīvākie izrādījās, uzglabājot eļļu tumsā paaugstinātā temperatūrā. Savukārt gaismā istabas temperatūrā savu negatīvo ietekmi demonstrēja no ekstraktiem neatdalītais hlorofils, kas veicināja eļļas oksidēšanos. Starp pievienotajiem ekstraktiem visos uzglabāšanas apstākļos efektīvākais eļļas oksidēšanās kavētājs bija lupstāju kātu ekstrakts, bet DPPH radikāļu saistītājs – mārrutku lapu ekstrakts.

### **Summary of Chapter 3.4**

*Horseradish and lovage extracts show antioxidant activity, but, in order to ascertain that they also effectively stabilize lipids, horseradish leave, lovage leave and stem extracts were added to non-refined rapeseed oil.*

*The first stage analyzed the effect of elevated temperature on the stability of non-refined rapeseed oil, with oil samples being stored in the dark at a temperature of  $60 \pm 1$  °C. At the end of the experiment, the oil samples showed significant ( $p < 0.05$ ) differences in terms of peroxide and hydroperoxide concentration, but not in terms of the content of free fatty acids.*

*The plant extracts delayed the oxidation of non-refined rapeseed oil, and greater ability to delay oxidation in such storage conditions was shown by oil samples with added lovage stem extract in 1% concentration (after 22 days of storage, the peroxide value was  $79.26 \pm 1.94$  meq  $O_2$   $kg^{-1}$  oil).*

*After 22 days of storage in an elevated temperature in the dark, the greatest oil antiradical activity was retained by the oil sample with added 1.5% horseradish leave extract (42.86%) and 1% lovage leave extract (42.56%), which was significantly ( $p < 0.05$ ) higher when compared to the control sample (26.95%), as well as the oil sample with added BHT (38.14%).*

*In the second stage, in analyzing oil samples stored in a temperature of  $22 \pm 1$  °C, the most effective among the added plant extracts was lovage stem extract. When storing in the dark, oil samples with the added extracts (1%) oxidize significantly ( $p < 0.05$ ) slower than the control sample and the sample with synthetic antioxidant. After 24 weeks of storage, the lowest oxidation was shown by the oil sample with added lovage stem extract, and its peroxide value was  $60.72$  meq  $O_2$   $kg^{-1}$  oil.*

*Among oil samples stored in room temperature, both in light/dark and in the dark, greater DPPH radical scavenging ability after 24 weeks was retained by the oil sample with added 1% horseradish leave extract and 1% lovage leave extract, which was significantly ( $p < 0.05$ ) higher compared to the oil sample with added BHT, as well as the control sample.*

*The extracts added to the oil turned out to be most effective when storing the oil in the dark, in an elevated temperature. In the light, in room temperature, negative influence was demonstrated by the chlorophyll not separated from the extracts, which promoted oil oxidation. Among the added extracts, under all storage conditions the most effective delayer of oil oxidation was lovage stem extract, and the most effective DPPH radical scavenger was horseradish leave extract.*

## SECINĀJUMI

1. Mārrutku un lupstāju fizikāli ķīmiskos rādītājus būtiski ( $p < 0,05$ ) ietekmē genotips, auga daļa, kā arī novākšanas laiks. Gan mārrutkiem, gan arī lupstājiem lapās bija būtiski ( $p < 0,05$ ) lielāks fenolu savienojumu saturs un antioksidantu aktivitāte nekā saknēs.
2. Mārrutku un lupstāju lapās augstākais fenolu saturs konstatēts tūlīt pēc ziedēšanas, savukārt mārrutku saknēs un lupstāju kātos augstākā antioksidantu aktivitāte novērota nobriedušos augos. Salīdzinot mārrutkus un lupstājus, augstākie fenolu savienojumu un antiradikālās aktivitātes rādītāji bija mārrutku lapās, bet reducēšanas spējas rādītāji – lupstāju kātos.
3. Saldēšanas rezultātā lupstāju kātos palielinās fenolu savienojumu saturs un antioksidantu aktivitāte, lupstāju lapās – flavonoīdu saturs un reducēšanas spēja, bet mārrutku saknēs – rutīna un kafijskābes saturs.
4. Kaltējot sublimācijas kaltē, mārrutku saknēs samazinās fenolu savienojumu saturs un antioksidantu aktivitāte, bet pēc kaltēšanas mikroviļņu-vakuuma kaltē tajās palielinās antiradikālā aktivitāte, salīdzinot ar svaigām saknēm.
5. Palielinoties ekstrakcijas šķīdinātāja polaritātei, būtiski ( $p < 0,05$ ) palielinās fenolu savienojumu saturs un antioksidantu aktivitāte mārrutku un lupstāju ekstraktos.
6. Pagarinoties mikroviļņu iedarbības ilgumam, būtiski ( $p < 0,05$ ) samazinājās flavonoīdu saturs un antioksidantu aktivitāte mārrutku un lupstāju ekstraktos.
7. Mārrutku un lupstāju fenolu savienojumu un antioksidantu ekstrakcijai piemērotāka ir šķīdinātāja kritiskā (viršanas) temperatūra atmosfēras spiedienā.
8. Uzglabājot  $+22\text{ °C}$  un  $60\text{ °C}$  temperatūrā tumsā pievienotie augu ekstrakti būtiski ( $p < 0,05$ ) kavē nerafinētas rapšu eļļas oksidēšanos un to aktivitāte bija augstāka kā sintētiskajam antioksidantam (BHT). Efektīvāks bija 1 % lupstāju kātu ekstrakts.
9. Pētījumā iegūtie dati apstiprina izvirzīto hipotēzi – mārrutkos un lupstājos esošie antioksidanti kavē lipīdu oksidēšanos.

## IETEIKUMI RAŽOTĀJIEM

1. Soksleta ekstrakciju ar 95% etanolu ieteicams izvēlēties, lai iegūtu mārrutku un lupstāju ekstraktus ar augstāku bioloģiski aktīvo vielu saturu un antioksidantu aktivitāti.
2. Nerafinētās rapšu eļļas oksidatīvās stabilitātes palielināšanai, uzglabājot tumsā, var izmantot 1% lupstāju kātu vai mārrutku lapu ekstraktus.

## ***CONCLUSIONS***

1. The physical and chemical parameters of horse radish and lovage were significantly affected ( $p < 0.05$ ) by a genotype, a part of the plant and the harvest time. Both horseradish and lovage had significantly higher ( $p < 0.05$ ) content of phenolic compounds and antioxidant activity in leaves than in roots.
2. The highest phenolic content in horseradish and lovage leaves was found right after the blooming; as regards antioxidant activity in horseradish roots and lovage stems, the highest level was found in mature plants. Comparing horseradish and lovage, the highest level of phenolic compounds and scavenging activity was found in horseradish leaves, but the highest reducing power level was found in lovage stems.
3. In freezing conditions the content of phenolic compounds and antioxidant activity increased in lovage stems, the content of flavonoids and reducing power increased in lovage leaves, but the content of rutin and caffeic acid increased in horseradish roots.
4. Freeze dry caused the decrease of the content of phenolic compounds and antioxidant activity in horseradish roots, but microwave vacuum drying treatment increased scavenging activity in horseradish roots comparing with fresh roots.
5. The increase of the polarity of extraction solvent caused a significant increase ( $p < 0.05$ ) of the content of phenolic compounds and antioxidant activity in horseradish and lovage extracts.
6. The increase of the duration of microwave treatment significantly ( $p < 0.05$ ) decreased the content of flavonoids and antioxidant activity in horseradish and lovage extracts.
7. The critical (boiling) temperature under atmospheric pressure was more appropriate for extraction of phenolic compounds and antioxidants in horseradish and lovage.
8. Storage at +22 °C and 60 °C temperature and plant extracts added in the darkness significantly ( $p < 0.05$ ) inhibited oxidizing of unrefined rapeseed oil and their activity was higher than that of synthetic antioxidant (BHT). Lovage stems (1%) extract was more effective.
9. The data obtained in the research accepted the hypothesis: antioxidants in horseradish and lovage inhibit lipid oxidizing.

## **RECOMMENDATIONS FOR PRODUCERS**

1. Soxhlet extraction with 95% ethanol is recommended in order to obtain horseradish and lovage extracts with higher content of biologically active substances and antioxidant activity.
2. 1% extracts from lovage stems or horseradish leaves can be used to increase oxidizing stability of unrefined rapeseed oil stored in the darkness.

## INFORMĀCIJAS AVOTI / INFORMATION SOURCES

1. Abdulmanea K., Prokudina E. A., Lanková P., Vaníčková L., Koblůvská R., Zelený V., Lapčík O. (2012) Immunochemical and HPLC identification of isoflavonoids in the Apiaceae family. *Biochemical Systematics and Ecology*, Vol. 45, p. 237-243.
2. Achanta S., Okos M. R. (1995) Impact of drying on biological product quality. **In:** *Food Preservation by Moisture Control: Fundamentals and Applications*. Edited by: G. V. Barbosa-Canovas, J. Welte-Chanes. Switzerland: Technomic Publishing, p. 637-657.
3. Ahmad-Qasem M. H., Barrajón-Catalán E., Micol V., Mulet A., García-Pérez J. V. (2013) Influence of freezing and dehydration of olive leaves (*var. Serrana*) on extract composition and antioxidant potential. *Food Research International*, Vol. 50, p. 189-196.
4. Ahrne L. M., Pereira N. R., Staack N., Floberg P. (2007) Microwave convective drying of plant foods at constant and variable microwave power. *Drying Technology*, Vol. 25, issue 7, p. 1149-1153.
5. Alam Md. N., Bristi N. J., Rafiquzzaman Md. (2013) Review on in vivo and in vitro methods evaluation of antioxidant activity. *Saudi Pharmaceutical Journal*, Vol. 21, issue 2, p. 143-152. Pieejams: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jsps.2012.05.002>
6. Almulla A., Eid M., Côté P., Coburn J. (2003) Developments in high recovery brackish water desalination plants as part of the solution to water quantity problems. *Desalination*, Vol. 153, issue 1-3, p. 237-243.
7. Alothman M., Rajeev B., Karim A. A. (2009) Antioxidant capacity and phenolic content of selected tropical fruits from Malaysia, extracted with different solvents. *Food Chemistry*, Vol. 115, issue 3, p. 785-788.
8. Alzoreky N., Nakahara K. (2001) Antioxidant activity of some edible Yemeni plants evaluated by Ferrylmyoglobin/ABTS+ assay. *Food Science and Technology Research*, Vol. 7, p. 141-144.
9. Amarowicz R., Pegg R. B., Rahimi-Moghaddam P., Barl B., Weil J. A. (2004) Freeradical scavenging capacity and antioxidant activity of selected plant species from the Canadian prairies. *Food Chemistry*, Vol. 84, p. 551-562.
10. Angela M., Meireles A. (2009) *Extracting Bioactive Compounds for Food Products, Theory and Applications*. Edited by: M. Angela A. Meireles, Boca Raton: CRC Press/Taylor and Francis Group, LLC. 464 p. ISBN: 978-1-4200-6237-3.
11. Aquino R., Morelli S., Lauro M. R., Abdo S., Saija A., Tomaino A. (2001) Phenolic constituents and antioxidant activity of an extract of *Anthurium versicolor* leaves. *Journal of Natural Products*, Vol. 64, issue 8, p. 1019-1023.
12. Arhipova I., Bāliņa S. (2003) *Statistika ekonomikā. Risinājumi ar SPSS un Microsoft Excel*. Rīga: Datorzinību centrs. 352 lpp.
13. Arrigoni-Blank M. F., Antonioli A. R., Caetano L. C., Campos D. A., Blank A. F., Alves P. B. (2008) Antinociceptive activity of the volatile oils of *Hyptis pectinata* L. Poit. (*Lamiaceae*) genotypes. *Phytomedicine*, Vol. 15, p. 334-339. DOI:10.1016/j.phymed.2007.09.009.

14. Arslan D., Musa Özcan M. (2010) Study the effect of sun, oven and microwave drying on quality of onion slices. *LWT – Food Science and Technology*, Vol. 43, p. 1121-1127.
15. Arts I. C. W., Hollman P. C. H. (2005) Polyphenols and disease risk in epidemiologic studies. *American Journal of Clinical Nutrition*, Vol. 81, p. 317-325.
16. Arts I. C., Hollman P. C., Feskens E. J. (2001) Catechin intake might explain the inverse relation between tea consumption and ischemic heart disease: the Zutphen Elderly Study. *American Journal of Clinical Nutrition*, Vol. 74, p. 227-232.
17. Athukorala Y., Kim K. N., Jeon Y. J. (2006) Antiproliferative and antioxidant properties of an enzymatic hydrolysate from brown alga *Ecklonia cava*. *Food and Chemical Toxicology*, Vol. 44, p. 1065-1074.
18. Attanassova M., Christova-Bagdassarian V. (2009) Determination of tannins content by titrimetric method for comparison of different plant species. *Journal of the University of Chemical Technology and Metallurgy*, Vol. 44, issue 4, p. 413-415.
19. Aybastier Ö., Işık E., Şahin S., Demir C. (2013) Optimization of ultrasonic-assisted extraction of antioxidant compounds from blackberry leaves using response surface methodology. *Industrial Crops and Products*, Vol. 44, p. 558-565.
20. Babbar N., Oberoi H. S., Uppal D. S., Patil R. T. (2011) Total phenolic content and antioxidant capacity of extracts obtained from six important fruit residues. *Food Research International*, Vol. 44, issue 1, p. 391-396.
21. Bahorun T., Luximon-Ramma A., Crozier A., Aruoma O. I. (2004) Total phenol, flavonoid, proanthocyanidin and vitamin C levels and antioxidant activities of Mauritian vegetables. *Journal of Science of Food and Agriculture*, Vol. 84, p. 1553-1561.
22. Ball G. (2006) Vitamins in Foods. **In:** *Analysis, Bioavailability and Stability*. Edited by: G. Ball. London, New York: CRC Press, Taylor and Francis Group. 785 p.
23. Ballard T. S., Mallikarjunan P., Zhou K., O'Keefe S. (2010) Microwave-assisted extraction of phenolic antioxidant compounds from peanut skins. *Food Chemistry*, Vol. 120, issue 4, p. 1185-1192. Pieejams arī: <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2009.11.063>
24. Bartosz G. (2003) Total antioxidant capacity. *Advances in Clinical Chemistry*, Vol. 37, p. 219-292.
25. Bartosz G., Kołakowska A. (2011) Lipid oxidation in food systems. **In:** *Chemical Biological, and Functional Aspects of Food Lipids*. Edited by: Z. E. Sikorski, A. Kołakowska (eds). Boca Raton FL: CRC Press, p. 163-184.
26. Bauer I., Körner S., Pawelke B., Al-Malaika S., Habicher W. D. (1998) Hydroperoxide decomposing ability and hydrolytic stability of organic phosphites containing hindered amine moieties (HALS-Phosphites). *Polymer Degradation and Stability*, Vol. 62, issue 1, p. 175-186. DOI:10.1016/S0141-3910(97)00276-0
27. Bayrakçeken F., Karaaslan İ. Ş. (2003) High resolution electronic absorption spectra of aniline, anilino and silicon dioxide. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, Vol. 59, issue 12, p. 2785-2789.
28. Belitz H.-D., Grosch W., Schieberle P. (2009) *Food Chemistry*. 4<sup>th</sup> revised edition. Edited by: M. Burghagen. Berlin, Heidelberg: Springer-Verlag. 1070 p. Pieejams arī: <http://trove.nla.gov.au/work/10026757>



29. Bhagwat S., Haytowitz D. B., Holden J. M. (2007) *USDA database for the oxygen radical absorbance capacity (ORAC) of selected foods*. American Institute for Cancer Research Launch Conference. Washington, DC, p. 1-2.
30. Bhale S. D., Xu Z., Prinyawiwatukul W., King J. M., Godber J. S. (2007) Oregano and rosemary extracts inhibit oxidation of long-chain n-3 fatty acids in menhaden oil. *J Food Sci.*, Vol. 72, p. 504-508.
31. Bhat S. V., Nagasampagi B. A., Sivakumar M. (2007) *Chemistry of Natural Products*. Berlin, Heidelberg: Springer; New Delhi: Narosa. 840 p.
32. Bhohe A., Pai J. (1986) Study of the properties of frozen shrimps. *Journal of Food Science and Technology*, Vol. 23, issue 3, p. 143-147.
33. Björkman M., Klingen I., Birch A. N. E., Bones A. M., Bruce T. J. A., Johansen T. J., Meadow R., Mølmann J., Seljåsen R., Smart L. E., Stewart D. (2011) Phytochemicals of Brassicaceae in plant protection and human health – Influences of climate, environment and agronomic practice. *Phytochemistry*, Vol. 72, p. 538-556.
34. Bohm B. A. (1998) *Introduction to flavonoids*. Amsterdam, Holland: Harwood Academic Publishers. 410 p.
35. Bondet V., Brand-Williams W., Berset C. (1997) Kinetics and mechanisms of antioxidant activity using the DPPH free radical method. *Lebensmittel-Wissenschaft und Technologie*, Vol. 30, issue 6, p. 609-615.
36. Bones A. M., Rossiter J. T. (1996) The myrosinase-glucosinolate system, its organization and biochemistry. *Plant Physiology*, Vol. 97, issue 1, p. 194-208.
37. Bones A. M., Rossiter J. T. (2006) The enzymic and chemically induced decomposition of glucosinolates. *Phytochemistry*, Vol. 67, issue 11, p. 1053-1067. DOI:10.1016/j.phytochem.2006.02.024.
38. Boonsumrej S., Chaiwanichsiri S., Tantratian S., Suzuki T., Takai R. (2007) Effects of freezing and thawing on the quality changes of tiger shrimp (*Penaeus monodon*) frozen by air-blast and cryogenic freezing. *Journal of Food Engineering*, Vol. 80, issue 1, p. 292-299.
39. Bossi A., Piletsky S. A., Piletska E. V., Righetti P. G., Turner A. P. F. (2000) An assay for ascorbic acid based on polyaniline-coated microplates. *Journal of Analytical Chemistry*, No.72, p. 4296.
40. Boussetta N., Lanoisellé J. L., Bedel-Cloutour C., Vorobiev E. (2009) Extraction of soluble matter from grape pomace by high voltage electrical discharges for polyphenol recovery: Effect of sulphur dioxide and thermal treatments. *Journal of Food Engineering*, Vol. 95, issue 1, p. 192-198.
41. Bowman F. M., Pilinis C., Seinfeld J. H. (1995) Ozone productivity of reactive organics. *Atmospheric Environment*, Vol. 29, p. 579-589.
42. Branen A. L., Davidson P. M., Salminen J. H. (2002) *Food Additives*. 2nd edition Revised and Expanded. New York: Marcel Dekker, Inc. 953 p.
43. Bravo L. (1998) Polyphenols: chemistry, dietary sources, metabolism, and nutritional significance. *Nutrition Reviews*, Vol. 56, p. 317-333.
44. Brielman H. L., Setzer W. N., Kaufman P. B., Kirakosyan A., Cseke L. J. (2006) Phytochemicals: The chemical components of plants. **In:** *Natural Products from Plants*, Edited by: L.J. Cseke, A. Kirakosyan, P.B. Kaufman, S.L. Warber, J.A. Duke, H.L. Brielmann. Boca Raton, FL: CRC Press Taylor & Francis Group, p. 1-49.
45. Brown J., Morra M. J. (2005) Glucosinolate-Containing Seed Meal as a Soil Amendment to Control Plant Pests 2000–2002. Subcontract Report NREL/SR-510-

35254. University of Idaho. Moscow, Idaho. 99 p. Pieejams arī: <http://www.nrel.gov/docs/fy05osti/35254.pdf>
46. Cai Y., Luob Q., Sunc M., Corke H. (2004) Antioxidant activity and phenolic compounds of 112 traditional Chinese medicinal plants associated with anticancer. *Life Sciences*, No. 74, p. 2157-2184.
  47. Calabrone L., Larocca M., Marzocco S., Martelli G. (2015) Total Phenolis and Flavonoids Content, Antioxidant Capacity and Lipase Inhibition if Root and Leaf Horseradish (*Armoracia rusticana*) Extracts. *Food and Nutrition Science*, Vol. 6, p. 64-74. Pieejams: <http://dx.doi.org/10.4236/fns.2015.61008>
  48. Camel V. (2000) Microwave-assisted solvent extraction of environmental samples, *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, Vol. 19, issue 4, p. 229-248. Pieejams arī: [http://dx.doi.org/10.1016/S0165-9936\(99\)00185-5](http://dx.doi.org/10.1016/S0165-9936(99)00185-5).
  49. Cao G., Sofic E., Prior R. L. (1997) Antioxidant and prooxidant behavior of flavonoids: Structure-activity relationships. *Free Radical Biology and Medicine*, Vol. 22, p. 749-760.
  50. Capanoglu E. (2010) The potential of priming in food production. *Trends in Food Science and Technology*, Vol. 21, p. 399-407.
  51. Caridi D., Trenerry V. C., Rochfort S., Duong S., Laughner D., Jones R. (2007) Profiling and quantifying quercetin glucosides in onion (*Allium cepa* L.) varieties using capillary zone electrophoresis and high performance liquid chromatography. *Food Chemistry*, Vol. 105, p. 691-699.
  52. Casazza A. A., Aliakbarian B., Mantegna S., Cravotto G., Perego P. (2010) Extraction of phenolics from *Vitis vinifera* wastes using non-conventional techniques. *Journal of Food Engineering*, Vol. 100, p. 50-55.
  53. Cermak R., Wolfram S. (2006) The potential of flavonoids to influence drug metabolism and pharmacokinetics by local gastrointestinal mechanisms. *Current Drug Metabolism*, Vol. 7, issue 7, p. 729-44. DOI:10.2174/138920006778520570. PMID 17073577.
  54. Chaieb N., González J.L., López-Mesas M., Bouslama M., Valiente M. (2011) Polyphenols content and antioxidant capacity of thirteen faba bean (*Vicia faba* L.) genotypes cultivated in Tunisia. *Food Research International*, Vol. 44, p. 970-977.
  55. Chaiyasit W., Elias R. J., McClements D. J., Decker E. A. (2007) Role of physical structures in bulk oils on lipid oxidation. Critical Review. *Food Science and Nutrition*, Vol. 47, p. 299-317.
  56. Chan E. W. C., Lim Y. Y., Wong S. K., Lim K. K., Tan S. P., Lianto F. S., Yong M. Y. (2009) Effects of different drying methods on the antioxidant properties of leaves and tea of ginger species. *Food Chemistry*, Vol. 113, p. 166-172.
  57. Chan E. W. C., Lye P. Y., Eng S. Y., Tan Y. P. (2013) Antioxidant properties of herbs with enhancement effects of drying treatments: A synopsis. *Free Radicals and Antioxidants*, No. 3, p. 2-6. DOI.org/10.1016/j.fra.2013.02.001
  58. Chandrasekaran M. (1994) Methods for preprocessing and freezing of shrimps: a critical evaluation. *Journal of Food Science and Technology*, Vol. 31, issue 6, p. 441-452.
  59. Chassagne-Berces S., Fonseca F., Citeau M., Marin M. (2010) Freezing protocol effect on quality properties of fruit tissue according to the fruit, the variety and the stage of maturity. *LWT – Food Science and Technology*, Vol. 43, p. 1441-1449.
  60. Chassagne-Berces S., Poirier C., Devaux M. F., Fonseca F., Lahaye M., Pigorini G. (2009) Changes in texture, cellular structure and cell wall composition in apple tissue as a result of freezing. *Food Research International*, Vol. 42, p. 788-797.

61. Chemat F., Tomao V., Viot M. (2008) Ultrasound – assisted extraction in food analysis. **In:** *Handbook of Food Analysis Instruments by Semih Ötles*. Boca Raton, Florida, USA: CRC press, p. 85-103.
62. Chen J. H., Ho C.-T. (1997) Antioxidant activities of caffeic acid and its related hydroxycinnamic acid compounds. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, Vol. 45, p. 2374-2378.
63. Cherng J. M., Chiang W., Chiang L. C. (2008) Immunomodulatory activities of common vegetables and spices of Umbelliferae and its related coumarins and flavonoids. *Food Chemistry*, Vol. 106, issue 3, p. 944-950. DOI:10.1016/j.foodchem.2007.07.005
64. Chism G. W., Haard N. F. (1996) Characteristics of edible plant tissues. **In:** *Food chemistry*. Edited by: O.R. Fennema. New York: MarcelDekker, Inc., p. 943-1011.
65. Chung Y. C., Chang C. T., Chao W. W., Lin C. F., Chou S. T. (2002) Antioxidative activity and safety of the 50% ethanolic extract from red bean fermented by *Bacillus subtilis* IMR-NK1. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, Vol. 50, p. 2454-2458.
66. Cieřlik E., Gręda A., Adamus W. (2006) Contents of polyphenols in fruit and vegetables. *Food Chemistry*, Vol. 94, issue 1, p. 135-142.
67. Criado J. M., González M., Málek J., Ortega A. (1995) The effect of the CO<sub>2</sub> pressure on the thermal decomposition kinetics of calcium carbonate. *Thermochimica Acta*, Vol. 254, p. 121-127. DOI:10.1016/0040-6031(94)01998-V
68. Crozier A., Dakota T., Jaganath I. B., Marks S. C., Saltmarsh M., Clifford M. N. (2006) Secondary metabolites in fruits, vegetables, beverages and other plant-based dietary components. **In:** *Plant SecondaryMetabolites: Occurrence, Structure and Role in the Human Diet*. Edited by: A. Crozier, M. N. Clifford, H. Carlton. Australia: Ashihara Blackwell Publishing Ltd, p. 208-302.
69. Dai J., Mumper R. J. (2010) Plant phenolics: Extraction, analysis and their antioxidant and anticancer properties. *Molecules*, Vol. 15, p. 7313-7352.
70. Decker E. A., Chen B., Panya A., Elias R. J. (2010) 10 - Understanding antioxidant mechanisms in preventing oxidation in foods. **In:** *Oxidation in Foods and Beverages and Antioxidant Applications*. Cambridge:Woodhead Publishing Ltd, p. 225-248.
71. Decker E. A., Warner K., Richards M. P., Shahidi F. (2005) Measuring antioxidant effectiveness in food. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, Vol. 53, p. 4303-4310.
72. DeFilippis A. P., Sperling L. S. (2006) Understanding omega-3's. *Curriculum in Cardiology*, Vol. 151, issue 3, p. 564-570. DOI:10.1016/j.ahj.2005.03.051
73. Del Caro A., Piga A., Pinna I., Fenu P. M., Agabbio M. (2004) Effect of drying conditions and storage period on polyphenolic content, antioxidant capacity and ascorbic acid of prunes. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, No. 52, p. 4780-4784.
74. Dewick P. M. (1990) The biosynthesis of shikimate metabolites. *Natural Product Reports*, No. 7, issue 3, p. 165-189.
75. Dewick P. M. (2001) The biosynthesis of shikimate metabolites. *National Product Reports*, Vol. 18, p. 334-355.
76. Diaz-Moroto M. C., Perez-Coello M. S., Cabezudo M. D. (2002) Effect of different drying methods on the volatile compounds of parsley (*Petroselinum crispum* L.). *European Food Research and Technology*, Vol. 215, p. 227-230.

77. Do Q. D., Angkawijaya A. E., Tran-Nguyen P. L., Huynh L. H., Soetaredjo F. E., Ismadji S., Ju Y.-H. (2014) Effect of extraction solvent on total phenol content, total flavonoid content, and antioxidant activity of *Limnophila aromatica*. *Journal of Food and Drug Analysis*, Vol. 22, issue 3, p. 296-302. Pieejams arī: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jfda.2013.11.001>
78. Dörnenburg H., Knorr D. (1995) Strategies for the improvement of secondary metabolite production in plant cell cultures. *Enzyme and Microbial Technology*, Vol. 17, issue 8, p. 674-684. DOI:10.1016/0141-0229(94)00108-4
79. Dorofejeva K., Rakcejeva T., Galoburda R., Dukalska L., Kviešis J. (2011) Vitamin C content in Latvian cranberries dried in convective and microwave vacuum driers. **In:** *Food Process Engineering in a Changing World: proceedings of the 11th International congress on engineering and food (ICEF11)*, Athens, Greece, May 22-26, 2011. Vol. 2, p. 1199-1200
80. Dorta E., Lobo M. G., González M. (2012) Using drying treatments to stabilise mango peel and seed: Effect on antioxidant activity. *Lebensmittel-Wissenschaft und -Technologie*, No. 45, p. 261-268.
81. Drewnowski A, Gomez-Carneros C. (2000) Bitter taste, phytonutrients, and the consumer: a review. *The American Journal of Clinical Nutrition*, No.72, issue 6, p. 1424-1435.
82. Durling N. E., Catchpole O. J., Grey J. B., Webby R. F., Mitchell K. A., Yeap Foo L., Perry N. B. (2007) Extraction of phenolics and essential oil from dried sage (*Salvia officinalis*) using ethanol–water mixtures. *Food Chemistry*, Vol. 101, issue 4, p. 1417-1424.
83. Dūma M., Alsiņa I., Dubova L., Zeipiņa S. (2014) Titrimetrisko metožu salīdzinājums askorbīnskābes satura noteikšanai dārzeņos. **No:** *Zinātniski praktiskā konference „Līdzsvarota Lauksaimniecība”*, 20 – 21. februāris 2014., Jelgava, LLU, p. 131. - 135.
84. Dykes L., Rooney L. W. (2007) Phenolic Compounds in cereal Grains and Their health benefits. *Cereal Food Worlds*, Vol. 52 (3), p. 105–111. doi:10.1094 / CFW-52-3-0105
85. Eberhardt M. V., Kobira K., Keck A., Juvik J. A., Jeffery E. H. (2005) Correlation analyses of phytochemical composition, chemical, and cellular measures of antioxidant activity of Broccoli (*Brassica oleracea L. var. italica*). *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, Vol. 53, p. 7421-7431.
86. Elzaawely A. A., Xuan T. D., Koyama H., Tawata S. (2007). Antioxidant activity and contents of essential oil and phenolic compounds in flowers and seeds of *Alpinia zerumbet* (Pers.) B.L. Burtt. and R.M. Sm. *Food Chemistry*, No. 104, p. 1648-1653.
87. Erbay Z., Icier F. (2009) Optimization of drying of olive leaves in a pilot-scale heat pump dryer. *Drying Technology*, No. 27, issue 3, p. 416-427.
88. *ES regula EKR 1129 no 2011.gada Eiropas Parlamenta un Padomes Regula (EK) Nr. 1129/ 2011 (2011. gada 11. novembris) ar ko groza Eiropas Parlamenta un Padomes Regulas (EK) Nr. 1333/2008 II pielikumu, izveidojot Eiropas Savienības atļauto pārtikas piedevu sarakstu [tiešsaiste]* Dokuments attiecas uz EEZ. [Skatīts 20.03.2015.]. Pieejams: <http://www.l2d.lv/leul.php?i=25232>
89. *ES regula EKR 1333 no 2008.gada Eiropas Parlamenta un Padomes Regula (EK) Nr. 1333/2008 (2008. gada 16. decembris) par pārtikas piedevām [tiešsaiste]* [skatīts 31.01.2015.]. Pieejams: <http://eur-lex.europa.eu/legal-content/LV/ALL/?uri=CELEX:32008R1333>

90. Eskilsson C., Bjorklund E. (2000) Analytical-scale microwave-assisted extraction, *Journal of Chromatography A*, Vol. 902, p. 227-250.
91. Fahey J. W., Zalcmann A. T., Talalay P. (2001) The chemical diversity and distribution of glucosinolates and isothiocyanates among plants. *Phytochemistry*, Vol. 56, issue 1, p. 5-51. DOI:10.1016/S0031-9422(00)00316-2.
92. Fang Z., Hu Y., Liu D., Chen J., Ye X. (2008) Changes of phenolic acids and antioxidant activities during potherb mustard (*Brassica juncea*, Coss.) pickling. *Food Chemistry*, Vol. 108, issue 3, p. 811-817.
93. Faustman C., Yin S., Tatiyaborworntam N. (2010) Oxidation and protection of red meat. **In:** *Oxidation in Foods and Beverages and Antioxidant Applications*. Volume 2: Management in Different Food Sectors. Edited by: E. Decker, R. Elias, D.J. McClements, Cambridge: Woodhead Publishing Limited, p. 3-49.
94. Fellow P. (2000) *Food Processing Technology: Principles and Practice*. 2nd ed. Boca Raton: CRC Press LLC. 608 p.
95. Fernando I. D. N. S., Abeysinghe D. C., Dharmadasa R. M. (2013) Determination of phenolic contents and antioxidant capacity of different parts of *Withania somnifera* (L.) Dunal. from three different growth stages. *Industrial Crops and Products*, Vol. 50, p. 537-539. Pieejams: <http://dx.doi.org/10.1016/j.indcrop.2013.08.042>
96. Ferrali M., Signorini C., Caciotti B., Sugherini L., Ciccoli L., Giachetti D., Comporti M. (1997) Protection against oxidative damage of erythrocyte membrane by the flavonoid quercetin and its relation to iron chelating activity. *FEBS Letters*, Vol. 416, issue 2, p. 123-129. DOI:10.1016/S0014-5793(97)01182-4
97. Gaberscik A., Voncina M., Trost T., Germ M., Bjorn L. O. (2002) Growth and production of buckwheat (*Fagopyrum esculentum*) treated with reduced, ambient and enhanced UV-B radiation. *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology*, Vol. 66, p. 30-42.
98. Galoburda R., Rakčejeva T. (2008) *Pārtikas apstrādes alternatīvie procesi*. Jelgava: LLU. 94 lpp.
99. Gamage G. R., Park H. J., Kim K. M. (2009) Effectiveness of antimicrobial coated oriented polypropylene/polyethylene films in sprout packaging. *Food Research International*, Vol. 42, p. 832-839. DOI:10.1016/j.foodres.2009.03.012.
100. Gertz C., Klostermann S., Kochhar S. P. (2000) Testing and comparing oxidative stability of vegetable oils and fats at frying temperature. *European Journal of Lipid Science and Technology*, No. 102, p. 543-551.
101. Giergielewicz-Moajska H., Dbrowski U., Namienik J. (2001) Accelerated Solvent Extraction (ASE) in the Analysis of Environmental Solid Samples – Some Aspects of Theory and Practice, Critical Reviews. *Analytical Chemistry*, Vol. 31, p. 149-165. DOI:10.1080/20014091076712.
102. Gordon M. H.(2000) Chapter 4. Measuring antioxidant activity. **In:** *Antioxidants in Food*. Edited by: J. Pokorny, N. Yanishlieva, M. Gordon. Boca Raton FL: CRC Press LLC, p. 71-87.
103. Gould K. S., Lister C. (2006) Chapter 8: Flavonoid Functions in Plants. **In:** *Flavonoids Chemistry, Biochemistry and Applications*. Edited by: Ø.M. Andersen, K. R. Markham. Boca Raton FL: CRC Press Taylor & Francis Group LLC, p. 397-441.
104. Govere E. M., Tonegawa M., Bruns M. A., Wheeler E. F., Kephart K. B., Voigt J. W., Dec J. (2007) Using minced horseradish roots and peroxides for the

- deodorization of swine manure: A pilot scale study. *Bioresource Technology*, Vol. 98, issue 6, p. 1191-1198.
105. Grubb C. D., Abel S. (2006) Glucosinolate metabolism and its control. *Trends Plant Science*, No.11, issue 2, p. 89-100.
  106. Gry J., Black L., Eriksen F. D., Pilegaard K., Plumb J., Rhodes M., Sheehan D., Kiely M., Kroon P. (2007) EuroFIR-BASSIS – a combined composition and biological activity database for bioactive compounds in plant-based food. *Trends in Food science and Technology*, Vol. 18, p. 434-444.
  107. Gupta K. J., Fernie A. R., Kaiser W. M., van Dongen J. T. (2011) On the origins of nitric oxide. *Trends in Plant Science*, Vol. 16, p. 160-168.
  108. Ha D. O., Yeo J. D., Kang S. T., Kim M.-J., Lee J. H. (2012) Sodium azide and metal chelator effects on 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) radical scavenging compounds from methylene blue photosensitized lard. *European Journal of Lipid Science and Technology*, Vol. 114, issue 7, p. 780-786. DOI: 10.1002/ejlt.201100329
  109. Halkier B. A., Gershenzon J. (2006) Biology and biochemistry of glucosinolates. *Annual Review of Plant Biology*, No. 57, p. 303-333.
  110. Halliwell B. (1999) Food-derived antioxidants. Evaluating their importance in food and *in vivo*. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, Vol. 18, p. 1–29.
  111. Halliwell B. (2008) Are polyphenols antioxidants or pro-oxidants? What do we learn from cell culture and *in vivo* studies? *Archives of Biochemistry and Biophysics*, Vol. 476, p. 107-112.
  112. Harborne J. B., Baxter H., Moss G. P. (1999) Phytochemical dictionary, **In: Handbook of Bioactive Compounds from Plants**. 2nd edition. London: Taylor and Francis, p. 976.
  113. Hassas-Roudsari M., Chang P. R., Pegg R. B., Tyler R. T. (2009) Antioxidant capacity of bioactives extracted from canola meal by subcritical water, ethanolic and hot water extraction. *Food Chemistry*, Vol. 114, issue 2, p. 717-726.
  114. Heim C., Newport D. J., Wagner D., Wilcox M. M., Miller A. H., Nemeroff C. B. (2002) The role of early adverse experience and adulthood stress in the prediction of neuroendocrine stress reactivity in women: a multiple regression analysis. *Depress Anxiety*, Vol. 15, p. 117-125.
  115. Heimler D., Vignolini P., Dini M. G., Vincieri F. F., Romani A. (2005) Antiradical activity and polyphenol composition of local *Brassicaceae* edible varieties. *Food Chemistry*, Vol. 99, p. 464-469.
  116. Hemwimon S., Pavasant P., Shotipruk A. (2007) Microwave-assisted extraction of antioxidative anthraquinones from roots of *Morinda citrifolia*. *Separation and Purification Technology*, Vol. 54, issue 1, p. 44-50.
  117. Henderson D. E. (2010) Chapter 9. Control and Effects of Temperature in Analytical HPLC. **In: Handbook of HPLC**. Edited by: D. Corradini. 2nd edition. Boca Raton: CRC Press, p. 257-275. DOI: 10.1201/EBK1574445541-c9
  118. Herrero M., Plaza M., Cifuentes A., Ibañez E. (2010) Green processes for the extraction of bioactives from Rosemary: Chemical and functional characterization via ultra-performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry and invitro assays. *Journal of Chromatography A*, Vol. 1217, issue 16, p. 2512-2520.
  119. Hilt P., Schieber A., Yildirim C., Arnold G., Klaiber I., Conrad J., Beifuss U., Carle R. (2003) Detection of phloridzin in strawberries (*Fragaria x ananassa* Duch.) by HPLC-PDA-MS/MS and NMR spectroscopy. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, No.51, p. 2896-2899.

120. Hoelz L. V. B., Horta B. A. C., Ara'ujo J. Q., Albuquerque M. G., de Alencastro R. B., da Silva J. F. M. (2010) Quantitative structure-activity relationships of antioxidant phenolic compounds. *Journal of Chemical and Pharmaceutical Research*, Vol. 2, issue 5, p. 291-306.
121. Hollman P. C. H., Katan M. B. (1999) Dietary flavonoids: Intake, health effects and bioavailability. *Food and Chemical Toxicology*, Vol. 37, p. 937-942.
122. Hossain M. B., Barry-Ryan C., Martin-Diana A. B., Brunton N. P. (2010) Effect of drying method on the antioxidant capacity of six Lamiaceae herbs. *Food Chemistry*, No. 123, p. 85-91.
123. Hounsome N., Hounsome B. (2011) Chapter 2 Biochemistry of Vegetables: Major Classes of Primary (Carbohydrates, Amino Acids, Fatty Acids, Vitamins, and Organic Acids) and Secondary Metabolites (Terpenoids, Phenolics, Alkaloids, and Sulfur-Containing Compounds) in Vegetables. **In:** *Handbook of Vegetables and Vegetable Processing*. Edited by: N.K. Sinha. Hoboken, NJ: A John Wiley & Sons, Ltd., Publication, p. 23-58. ISBN 978-0-8138-1541-1
124. Howard L., Pandjaitan N. (2008) Pressurized Liquid Extraction of Flavonoids from Spinach. *Journal of Food Science*, Vol. 73, issue 3, p. 151-157. DOI: 10.1111/j.1750-3841.2007.00658.x
125. Hsouna A. B., Saoudi M., Trigui M., Jamoussi K., Boudawara T., Jaoua S., El Feki A. (2011) Characterization of bioactive compounds and ameliorative effects of *Ceratonia siliqua* leaf extract against CCl<sub>4</sub> induced hepatic oxidative damage and renal failure in rats. *Food and Chemical Toxicology*, Vol. 49, issue 12, p. 3183-3191.
126. Hu G. S., Xu K. X., Jeong S. J., Kim D. H. (2010) Relationship of phenolic compounds and free-radical scavenging activity in black and red rice extract. Korean. *Journal of Breeding Science*, Vol. 42, p. 129-138.
127. Huie C. W. (2002) A review of modern sample-preparation techniques for the extraction and analysis of medicinal plants. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, Vol. 373, issue 1-2, p. 23-30.
128. Hung Lee C., Yang L., Ze Xu J., Ying S., Yeung V., Huang Y., Chen Z. Y. (2005) Relative antioxidant activity of soybean isoflavones and their glycosides. *Food Chemistry*, Vol. 90, issue 4, p. 735-741.
129. Ignat I., Volf I., Pop, V. I. (2010) A critical review of methods for characterisation of polyphenolic compounds in fruits and vegetables. *Food Chemistry*. Vol. 126, issue 4, p. 1821-1835.
130. Igual M., García-Martínez E., Martín-Esparza M. E., Martínez-Navarrete N. (2012) Effect of processing on the drying kinetics and functional value of dried apricot. *Food Research International*, No. 47, p. 284-290. DOI:10.1016/j.foodres.2011.07.019
131. Imene A., Monia E., Bassem K., Thabet Y., Hamadi A. (2012) Variation in chemical composition and biological activities of two species of *Opuntia* flowers at four stage of flowering. *Industrial Crops and Products*, Vol. 37, p. 34-40.
132. Jahangir M., Kim H. K., Choi Y. H., Verpoorte R. (2009) Health Affecting Compounds in Brassicaceae. *Food Science and Food Safety*, Vol. 8, p. 31-43. DOI: 10.1111/j.1541-4337.2008.00065.x
133. Jaitak V., Sharma K., Kalia K., Kumar N., Singh H. P., Kaul V. K., Singh B. (2010) Antioxidant activity of *Potentilla fulgens*: An alpine plant of western Himalaya. *Journal of Food Composition and Analysis*, No. 23, p. 142-147.

134. Jayaprakash G. K., Singh R. P., Sakariah K. K. (2001) Antioxidant activity of grape seed extracts on peroxidation models in-vitro. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, Vol. 55, p. 1018-1022.
135. Ju Z. Y., Howard L. R. (2005) Subcritical Water and Sulfured Water Extraction of Anthocyanins and Other Phenolics from Dried Red Grape Skin. *Journal of Food Science*, Vol. 70, issue 4, p. 270-276.
136. Kaiser A., Carle R., Kammerer D. R. (2013a) Effects of blanching on polyphenol stability of innovative paste-like parsley (*Petroselinum crispum* (Mill.) Nym ex A. W. Hill) and marjoram (*Origanum majorana* L.) products. *Food Chemistry*, Vol. 138, issue 2-3, p. 1648-1656. Pieejams arī: <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2012.11.063>
137. Kaiser A., Kammerer D. R., Carle R. (2013b) Impact of blanching on polyphenol stability and antioxidant capacity of innovative coriander (*Coriandrum sativum* L.) pastes. *Food Chemistry*, Vol. 140, issue 1-2, p. 332-339. Pieejams arī: <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2013.02.077>
138. Kamel R. A., Ong J. F., Eriksson E., Junker J. P. E., Caterson E. J. (2013) Tissue Engineering of Skin. *Journal of the American College of Surgeons*, Vol. 217, issue 3, p. 533-555. DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jamcollsurg.2013.03.027>
139. Kamiyama T., Yokoo H., Furukawa J.-I., Kurogochi M., Togashi T., Miura N., Nakanishi K., Kamachi H., Kakisaka T., Tsuruga Y., Fujiyoshi M., Taketomi A., Nishimura S.-I., Todo S. (2013) Identification of novel serum biomarkers of hepatocellular carcinoma using glycomic analysis. *Hepatology*, Vol. 57, issue 6, p. 2314-2325. DOI: 10.1002/hep.26262
140. Kammerer D. R., Kramer M., Carle R. (2012) Chapter 21. Phenolic Compounds. **In:** *Food Analysis by HPLC*. Edited by: L. M. L. Nollet, F. Toldra. 3rd edition. Boca Raton, FL: CRC Press, p. 717-756. DOI: 10.1201/b13024-22
141. Kammerer J., Carle R., Kammerer D. R. (2011) Adsorption and ion exchange: basic principles and their Application in food processing. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, No. 59, p. 22-42.
142. Katsube T., Tsurunaga Y., Sugiyama M., Furuno T., Yamasaki Y. (2009) Effect of air-drying temperature on antioxidant capacity and stability of polyphenolic compounds in mulberry (*Morus alba* L.) leaves. *Food Chemistry*, Vol. 113, issue 4, p. 964-969.
143. Kayashita J., Shimaoka I., Nakajoh M., Yamazaki M., Kato N. (1997) Consumption of buckwheat protein lowers plasma cholesterol and raise faecal neutral sterols in cholesterol-fed rats because of its low digestibility. *Journal of Nutrition*, Vol. 127, p. 1395-1400.
144. Khoddami A., Wilkes M. A., Roberts T. H. (2013) Techniques for analysis of plant phenolic compounds. *Molecules*, Vol. 18, issue 2, p. 2328-2375. DOI:10.3390/molecules18022328
145. Kim D., Jeong S. W., Lee C. Y. (2003) Antioxidant capacity of phenolic phytochemicals from various cultivars of plums. *Food Chemistry*, Vol. 81, p. 321-326.
146. Kim J. W., Nagaoka T., Ishida Y., Hasegawa T., Kitagawa K., Lee S. C. (2009) Subcritical water extraction of nutraceutical compounds from citrus pomaces. *Separation Science and Technology*, Vol. 44, issue 11, p. 2598-2608.
147. Kim T. S., Decker E. A., Lee J. H. (2012) Effects of chlorophyll photosensitisation on the oxidative stability in oil-in-water emulsions. *Food Chemistry*, Vol. 133, issue 4, p. 1449-1455. DOI:10.1016/j.foodchem.2012.02.033



148. Kim Y., Wampler D. J. (2011) Total polyphenol content in ready to drink teas determined by the Folin-Ciocalteu method and HPLC analysis. *Sensus Technical Note*, No. 34, p. 1-3.
149. Kjaer A. (1976) Glucosinolates in the cruciferae. **In:** *The Biology and Chemistry of the Cruciferae*. Edited by: J. G. Vaughan, A. J. MacLeod, B. M. G. Jons. London: Academic Press, p. 207-219.
150. Kleinová A., Cvengrošová Z., Cvengroš J. (2013) Oxidative stability of FAME prepared from oxidatively degraded rapeseed oils. *Fuel*, Vol. 106, p. 749-756. Pieejams arī: <http://dx.doi.org/10.1016/j.fuel.2012.12.039>
151. Kloucek P., Smid J., Frankova A., Kokoska L., Valterova I., Pavela R. (2012) Fast screening method for assessment of antimicrobial activity of essential oils in vapor phase. *Food Research International*, Vol. 47, issue 2, p. 161-165. DOI:10.1016/j.foodres.2011.04.044.
152. Ko M.-J., Cheigh C.-I., Chung M.-S. (2014) Relationship analysis between flavonoids structure and subcritical water extraction (SWE). *Food Chemistry*, Vol. 143, p. 147-155.
153. Koh E., Wimalasiri K. M. S., Chassy A. W., Mitchell A. E. (2009) Content of ascorbic acid, quercetin, kaempferol and total phenolics in commercial broccoli. *Journal of Food Composition and Analysis*, Vol. 22, p. 637-643. DOI:10.1016/j.jfca.2009.01.019.
154. Kołakowska A, Bartosz G. (2013) Chapter 1. Oxidation of Food Components. **In:** *Food Oxidants and Antioxidants Chemical, Biological, and Functional Properties*. Edited by: G. Bartosz. Boca Raton, FL: CRC Press, p. 1-20. eBook ISBN: 978-1-4398-8242-9
155. Kong B., Zhang H., Xiong Y. L. (2010) Antioxidant activity of spice extracts in a liposome system and in cooked pork patties and the possible mode of action. *Meat Science*, Vol. 85, issue 4, p. 772-778.
156. Koudela M., Petrikova K. (2008) Nutritional compositions and yield of sweet fennel cultivars – *Foeniculum vulgare* var. *azoricum* (Mill.) Thell. *Horticultural Science*. Prague, Vol. 35, p. 1-6.
157. Kreutzmann S., Christensen L. P., Edelenbos M. (2008) Investigation of bitterness in carrots (*Daucus carota* L.) based on quantitative chemical and sensory analyses. *LWT - Food Science and Technology*, Vol. 41, p. 193-205.
158. Kruma Z., Galoburda R., Sabovics M., Gramatina I., Skudra I., Dabina-Bicka I. (2011) Aroma composition of microwave vacuum dried dill (*Anethum graveolens* L.) stems. *Procedia Food Science*, Vol. 1, p. 1709-1716.
159. Kuntić V., Pejić N., Ivković B., Vujić Z., Ilić K., Mičić S., Vukojević V. (2007) Isocratic RP-HPLC method for rutin determination in solid oral dosage forms. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, Vol. 43, issue 2, p. 718-721. DOI:10.1016/j.jpba.2006.07.019
160. Kurilich A. C., Jeffery E. H., Juvik J. A., Wallig M. A., Klein B. P. (2002) Antioxidant capacity of different broccoli (*Brassica oleracea*) genotypes using the oxygen radical absorbance capacity (ORAC) assay. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, Vol. 50, p. 5053-5057.
161. Kurilich A. C., Tsau G. J., Brown A., Howard L., Klein B. P., Jeffery E. H., Kushad M., Wallig M. A., Juvik J. A. (1999) Carotene, tocopherol, and ascorbate contents in subspecies of *Brassica oleracea*. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, Vol. 47, p. 1576-1581.

162. Kusznierevich B., Bartoszek A., Wolska L., Drzewiecki J., Gorinstein S., Namieśnik J. (2008) Partial characterization of white cabbages (*Brassica oleracea* var. *capitata* f. *alba*) from different regions by glucosinolates, bioactive compounds, total antioxidant activities and proteins. *LWT - Food Science and Technology*, Vol. 41, p. 1-9.
163. Kwak S.-Y., Yang J.-K., Choi H.-R., Park K.-C., Kim Y.-B., Lee Y.-S. (2013) Synthesis and dual biological effects of hydroxycinnamoyl phenylalanyl/prolyl hydroxamic acid derivatives as tyrosinase inhibitor and antioxidant. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, Vol. 23, issue 4, p. 1136-1142.
164. Li X., Kushad M. M. (2005) Purification and characterization of myrosinase from horseradish (*Armoracia rusticana*) roots. *Plant Physiol Biochem*, Vol. 43, issue 6, p. 503-11.
165. Lien E. J., Ren S., Bui H.-H., Wang R. (1999) Quantitative structure-activity relationship analysis of phenolic antioxidants. *Free Radical Biology and Medicine*, Vol. 26, p. 285-294. DOI: 10.1016/j.plaphy.2005.03.015.
166. Lim Y. Y., Murtijaya J. (2007) Antioxidant properties of *Phyllanthus amarus* extracts as affected by different drying methods. *LWT - Food Science and Technology*, No. 40, p. 1664-1669.
167. Lin L., Lei F., Sun D.-W., Dong Y., Yang B., Zhao M. (2012) Thermal inactivation kinetics of *Rabdosia serra* (Maxim.) Hara leaf peroxidase and polyphenol oxidase and comparative evaluation of drying methods on leaf phenolic profile and bioactivities. *Food Chemistry*, No. 134, p. 2021-2029. Pieejams arī: <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2012.04.008>
168. Liu R. H. (2004) Potential synergy of phytochemicals in cancer prevention: mechanism of action. *Journal of Nutrition*, Vol. 134, p. 3479-3485.
169. Liu S. C., Lin J.-T., Wang C.-K., Chen H.-Y., Yang D.-J. (2009) Antioxidant properties of various solvent extracts from lychee (*Litchi chinensis* Sonn.) flowers. *Food Chemistry*, Vol. 114, issue 2, p. 577-581.
170. Londahl G. (1997) Technological aspects of freezing and glazing shrimp. *Infofish International*, Vol. 3, p. 49-56.
171. López A., Rico M., Rivero A., Suárez de Tangil M. (2011) The effects of solvents on the phenolic contents and antioxidant activity of *Stypocaulon scoparium* algae extracts. *Food Chemistry*, Vol. 125, issue 3, p. 1104-1109.
172. Lotito S. B., Frei B. (2006) Consumption of flavonoid-rich foods and increased plasma antioxidant capacity in humans: cause, consequence, or epiphenomenon? *Journal of Free Radicals in Biology & Medicine*, Vol. 41, issue 12, p. 1727-1746.
173. Lu G. H., Chan K., Liang Y. Z., Leung K., Chan C. L., Jiang Z. H., Zhao Z. Z. (2005) Development of high-performance liquid chromatographic fingerprints for distinguishing Chinese Angelica from related umbelliferae herbs. *Journal of Chromatography A*, Vol. 1073, No. 1-2, 6, p. 383-392.
174. Lu Y., Yeap Foo L. (1999) The polyphenol constituents of grape pomace. *Food Chemistry*, Vol. 65, issue 1, p. 1-8.
175. Luque de Castro M. D., Priego-Capote F. (2011) Focused microwave-assisted Soxhlet extraction. **In:** *Microwaves: Theoretical Aspects and Practical Applications in Chemistry*. Kerala, India: Transworld Research Network, p. 227.
176. Luximon-Ramma A., Theeshan B., Crozier A., Zbarsky V., Krishna P., David T., Okezie I. (2005) Characterization of the antioxidant functions of flavonoids and proanthocyanidins in Mauritian black teas. *Food Research International*, Vol. 38, issue 4, p. 357-367.

177. LVS 272:2000. *Labība. Analīžu metodes. Graudu mitruma noteikšana*. 2000. g. novembris. VSIA Latvijas Standarts. Rīga: Latvijas Standarts, 2000. 5 lpp. Grain - Methods of analysis - Determination of the moisture contents of cereal products.
178. LVS EN ISO 3960:2010 *Dzīvnieku un augu tauki un eļļas*. Peroksīdskaitļa noteikšana. Jodometriskā (vizuālā) noteikšana pēc beigu punkta (ISO 3960:2007, koriģētā versija 2009-05-15) [tiešsaiste] [skatīts 23.03.2015.]. Pieejams: <https://www.lvs.lv/lv/products/28550>
179. LVS EN ISO 660:2009 *Dzīvnieku un augu tauki un eļļas*. Skābes skaitļa un skābuma noteikšana. [tiešsaiste] [skatīts 23.03.2015.]. Pieejams: <https://www.lvs.lv/products/26810>
180. Ma X. H., Zheng C. J., Han L. Y., Xie B., Jia J., Cao Z. W., Li Y. X., Chen Y. Z. (2009) Synergistic therapeutic actions of herbalingredients and their mechanisms from molecular interaction and network perspectives. *Drug Discovery Today*, Vol. 14, p. 579-588.
181. Manach C., Mazur A., Scalbert A. (2005) Polyphenols and prevention of cardiovascular diseases. *Current Opinion in Lipidology*, Vol. 16, p. 77-84.
182. Manach C., Scalbert A., Morand C., Remesy C., Jimenez L. (2004) Polyphenols, food sources and bioavailability. *American Journal of Clinical Nutrition*, Vol. 79, p. 727-747.
183. Mandal L., Martinez-Agosto J. A., Evans C. J., Hartenstein V., Banerjee U. (2007a) A Hedgehog- and Antennapedia-dependent niche maintains Drosophila haematopoietic precursors. *Nature*, No. 446, p. 320-324. DOI 10.1038/nature05585
184. Mandal V., Mohan Y., Hemalatha S. (2007b) Microwave Assisted Extraction – An Innovative and Promising Extraction Tool for Medicinal Plant Research. *Pharmacognosy Reviews*, Vol 1, issue 1, p. 7-18.
185. Marinova D., Ribarova F., Atanassova M. (2005) Total phenolics and total flavonoids in Bulgaria fruits and vegetables. *Journal of the University of Chemical Technology and Metallurgy*, Vol. 40, p. 255-260.
186. Marrelli M., Menichini F., Statti G. A., Bonesi M., Duez P., Menichini F., Conforti F. (2012) Changes in the phenolic and lipophilic composition, in the enzyme inhibition and antiproliferative activity of *Ficus carica* L. cultivar Dottato fruits during maturation. *Food and Chemical Toxicology*, Vol. 50, p. 726-733.
187. Martysiak-Żurowska D., Wenta W. (2012) A comparison of ABTS and DPPH methods for assessing the total antioxidant capacity of human milk. *Acta Scientiarum Polonorum, Technologia Alimentaria*, Vol. 1 (11), p. 83-89.
188. Mattila P., Hellstrom J. (2007) Phenolic acids in potatoes, vegetables, and some of their products. *Journal of Food Composition and Analysis*, No. 20, issue 3-4, p. 152-160.
189. Matich A. J., Young H., Allen J. M., Wang M. Y., Fielder S., McNeilage M. A., MacRae E. A. (2003) *Actinidia arguta*: volatile compounds in fruit and flowers. *Phytochemistry*, Vol. 63, p. 285-301. DOI:10.1016/S0031-9422(03)00142-0.
190. Mayton H. S. (1996) Correlation of fungicidal activity of *Brassica* species with allylthiocyanate production in macerated leaf tissue. *Phytopathology*, Vol. 86, p. 267-271.
191. Medjakovic S., Zoehling A., Vollmer G., Zierau O., Kretzschmar G., Möller F., Kolba S., Papke A., Opietnik M., Kosma P., Rosenau T., Jungbauer A. (2011) Indolylfuran, a potent aryl hydrocarbon receptor agonist from sauerkraut, interacts with the oestrogen pathway. *Food Chemistry*, Vol. 127, No. 4, issue 15, p. 1764-1772. DOI: 10.1016/j.foodchem.2011.02.056.

192. Melgalve I., Pētersone M., Zariņš P. (1987) *Pārtikas produktu prečzinība*. Rīga Zvaigzne. 179 lpp.
193. Michielin E. M. Z., Bresciani L. F. V., Danielski L., Yunes R. A., Ferreira S. R. S. (2005) Composition profile of horsetail (*Equisetum giganteum* L.) oleoresin: comparing SFE and organic solvents extraction. *Journal of Supercritical Fluids*, Vol. 33, issue 2, p. 131-138. DOI:10.1016/j.supflu.2004.07.004.
194. Michiels J. A., Kevers C., Pincemail J., Defraigne J. O., Dommes J. (2012) Extraction conditions can greatly influence antioxidant capacity assays in plant food matrices. *Food Chemistry*, Vol. 130, p. 986-993.
195. Miean K. H., Mohamed H. (2001) Flavonoid (myricetin, quercetin, kaempferol, luteolin and apigenin) content of edible tropical plants. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, No. 49, issue 6, p. 3106-3112.
196. Mieriņa I., Bondarevska, jure M. A. (2011) Upeņu ekstraktu ietekme uz augu eļļas oksidatīvo stabilitāti. *Scientific Journal of Riga Technical University Material Science and Applied Chemistry*, Vol. 23, p. 43-48.
197. Miglio C., Chiavaro E., Visconti A., Fogliano V., Pellegrini N. (2008) Effects of different cooking methods on nutritional and physicochemical characteristics of selected vegetables. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, No. 56, issue 1, p. 139-147.
198. Miguel M. G., Falcato-Simoes M., Figueiredo A. C., Barroso J. M. G., Pedro L. G., Carvalho L. M. (2005) Evaluation of the antioxidant activity of *Thymbra capitata*, *Thymus mastichina* and *Thymus camphoratus* essential oils. *Journal of Food Lipids*, Vol. 12, issue 3, p. 181-197. DOI: 10.1111/j.1745-4522.2005.00015.x
199. Mithen R. F. (2001) Glucosinolates and their degradation products. *Advances in Botanical Research*, Vol. 35, p. 213-232.
200. Mokdad A., Mikšovská J., Larsen R. W. (2009) Photothermal studies of CO photodissociation from peroxidases from horseradish and soybean. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Proteins and Proteomics*, Vol. 1794, issue 11, p. 1558-1565.
201. Moller J. K. S., Madsen H. L., Aaltonen T., Skibsted L. H. (1999) Dittany (*Origanum dictamnus*) as a source of water-extractable antioxidants. *Food Chemistry*, Vol. 64, p. 215-219.
202. Morelli L. L. L., Prado M. A. (2012) Extraction optimization for antioxidant phenolic compounds in red grape jam using ultrasound with a response surface methodology. *Ultrasonics Sonochemistry*, Vol. 19, p. 1144-1149.
203. Mosca L., Benjamin E. J., Berra K., Bezanson J. L., Dolor R. J., Lloyd-Jones D. M., Wenger N. (2011) Effectiveness-based guidelines for the prevention of cardiovascular disease in women 2011 update. *A guideline from the American Heart Association Circulation*, Vol. 123, p. 1-21. DOI: 10.1161/CIR.0b013e31820faaf8
204. Mrad N. D., Boudhrioua N., Kechaou N., Courtois F., Bonazzi C. (2012) Influence of air drying temperature on kinetics, physicochemical properties, total phenolic content and ascorbic acid of pears. *Food and Bioproducts Processing*, Vol. 90, issue 3, p. 433-441. DOI:10.1016/j.fbp.2011.11.009
205. Mulinaccia N., Innocenti M., Bellumori M., Giaccherini C., Martini V., Michelozzi M. (2011) Storage method, drying processes and extraction procedures strongly affect the phenolic fraction of rosemary leaves: An HPLC/DAD/MS study. *Talanta*, No. 85, p. 167-176. DOI:10.1016/j.talanta.2011.03.050

206. Naczek M., Shahidi F. (2003) Chapter 8. Antioxidant Properties of Food Phenolics. **In:** *Phenolics in Food and Nutraceuticals*. Edited by: M. Naczek, F. Shahidi. Boca Raton, FL: CRC Press, p.1-40. DOI: 10.1201/9780203508732.ch8
207. Naczek M., Shahidi F. (2004a) Extraction and analysis of phenolics in food. *Journal of Chromatography A*, Vol. 1054, p. 95-111.
208. Naczek M., Shahidi F. (2004b) Phenolic compounds in fruits and vegetables. **In:** *Food Phenolics. Sources, Chemistry, Effects, Applications*. Boca Raton, FL: CRC Press, p. 132-236.
209. Naczek M., Shahidi F. (2006) Phenolic in cereals, fruit and vegetables: Occurrence, extraction and analysis. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, No. 41, p. 1523-1542.
210. Naik G. H., Priyadarsini K. I., Satav J. G., Banavalikar M. M., Sohoni P. P., Biyani M. K. (2003) Comparative antioxidant activity of individual herbal components used in Ayurvedic medicine. *Journal of Phytochemistry*, Vol. 63, p. 97-104.
211. Namiki M. (1990) Antioxidants/antimutagens in food. *Science and Nutrition*, Vol. 29, issue 4, p. 273-300.
212. Natella F., Belevi F., Gentili V., Ursini F., Scaccani C. (2002) Grape seed proanthocyanidins prevent plasma postprandial oxidative stress in humans. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, Vol. 50, p. 7720-7725.
213. Natella F., Nardini M., Di felice M., Scancini C. (1999) Benzoic and cinnamic acid derivatives as antioxidants: structure-activity relation. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, Vol. 47, p. 1453-1459.
214. Neoh T. L., Yamamoto C., Ikefuji S., Furuta T., Yoshii H. (2012) Heat stability of allylthiocyanate and phenylthiocyanate complexed with randomly methylated  $\beta$ -cyclodextrin. *Food Chemistry*, Vol. 131, p. 1123-1131. DOI:10.1016/j.foodchem.2011.09.077.
215. Nićiforović N., Mihailović V., Mašković P., Solujić S., Stojković A., Pavlović Muratspahić D. (2010) Antioxidant activity of selected plant species; potential new sources of natural antioxidants. *Food and Chemical Toxicology*, Vol. 48, issue 11, p. 3125-3130.
216. Nijveldt R. J., van Nood E., van Hoorn D. E. C., Boelens P. G., van Norren K., van Leeuwen P. A. M. (2001) Flavonoids: a review of probable mechanisms of action and potential applications. *The American Journal of Clinical Nutrition*, Vol. 74, p. 418-425.
217. Niki E., Noguchi N., Tsuchihashi H. (1995) Interaction among vitamin C, vitamin E, and beta-carotene. *The American Journal of Clinical Nutrition*, Vol. 62, issue 6, p. 1322S-1326S.
218. Niklava I., Schmidt S., Habalova K., Sekretar S. (2001) Effect of evening primrose extracts on oxidative stability of sunflower and rapeseed oils. *European Journal of Lipid Science and Technology*, Vol. 103, p. 299-306.
219. *Obligātās nekaitīguma prasības pārtikai, kuras ražošanā izmanto ekstrahējošus šķīdinātājus* (2011): LR Ministru kabineta noteikumi Nr.369, Rīgā 2011.gada 17.maijā (prot. Nr.31 8.§) [tiešsaite] [skatīts 05.02.2015.]. Pieejams: <http://likumi.lv/doc.php?id=230381>
220. Oktay M., Gulcin I., Kufrevioglu O. I. (2003) Determination of *in vitro* antioxidant activity of fennel (*Foeniculum vulgare*) seed extracts. *Lebanon-Wissen Technologies*, Vol. 36, p. 263-271.

221. Ong E. S., Cheong J. S. H., Goh D. (2006) Pressurized hot water extraction of bioactive or marker compounds in botanicals and medicinal plant materials. *Journal of Chromatography A*, Vol. 1112, issue 1, p. 92-102.
222. Onyilagha J., Bala A., Hallett R., Gruber M., Soroka J., Westcott N. (2003) Leaf flavonoids of the cruciferous species, *Camelina sativa*, *Crambe* spp., *Thlaspi arvense* and several other genera of the family *Brassicaceae*. *Biochemical Systematics and Ecology*, Vol. 31, p. 1309-1322. DOI:10.1016/S0305-1978(03)00074-7
223. Ou B., Hampsch-Woodhill M., Prior R. L. (2001) Development and validation of an improved oxygen radical absorbance capacity assay using fluorescein as the fluorescent probe. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, Vol 49, p. 4619-4626.
224. Özkan G., Gokturk Baydar N. (2006) A Direct RP-HPLC Determination of Phenolic Compounds in Turkish Red Wines. *Akdeniz Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, Vol. 19, issue 2, p. 229-234.
225. Park I. K., Choi K. S., Kim D. H., Choi I. H., Kim L. S., Bak W. C., Shin S. C. (2006) Fumigant activity of plant essential oils and components from horseradish (*Armoracia rusticana*), anise (*Pimpinella anisum*) and garlic (*Allium sativum*) oils against *Lycoriella ingenua* (Diptera: Sciaridae). *Pest Management Science*, Vol. 62, p. 723-728. DOI: 10.5897/AJB10.2023.
226. Pashikanti S., De Alba D. R., Boissonneault G. A., Cervantes- Laurean D. (2010) Rutin metabolites: Novel inhibitors of nonoxidative advanced glycation end products. *Journal of Free Radicals in Biology & Medicine*, Vol. 48, p. 656-663.
227. Patras A., Tiwari B. K., Brunton N. P. (2011) Influence of blanching and low temperature preservation strategies on antioxidant activity and phytochemical content of carrots, green beans and broccoli. *LWT - Food Science and Technology*, Vol. 44, issue 1, p. 299-306. DOI:10.1016/j.lwt.2010.06.019
228. Pawar N., Arora S., Bijoy R. R., Wadhwa B. K. (2012) The effects of *Asparagus racemosus* (shatavari) extract on oxidative stability of ghee, in relation to added natural and synthetic antioxidants. *International Journal of Dairy Technology*, Vol. 65, issue 2, p. 293-299.
229. Peñas E., Limón R. I., Vidal-Valverde C., Frias J. (2013) Effect of storage on the content of indole-glucosinolate breakdown products and vitamin C of sauerkrauts treated by high hydrostatic pressure. *LWT - Food Science and Technology*, Vol. 53, issue 1, p. 285-289.
230. Peng X. R., Liu J. Q., Wang C. F., Han Z. H., Shu Y., Li X. Y., Zhou L., Qiu M. H. (2015) Unusual prenylated phenols with antioxidant activities from *Ganoderma cochlear*. *Food Chemistry*, Vol. 171, p. 251-257.
231. Pérez-Gregorio M. R., Regueiro J., González-Barreiro C., Rial-Otero R., Simal-Gándara J. (2011) Changes in antioxidant flavonoids during freeze-drying of red onions and subsequent storage. *Food Control*, No. 22, p. 1108-1113. DOI:10.1016/j.foodcont.2011.01.006
232. Pietta P. G. (2000) Flavonoids as antioxidants. *Journal of Natural Products*, Vol. 63, p. 1035-1042.
233. Piljac-Žegarac J., Valek L., Martinez S., Belščak A. (2009) Fluctuations in the phenolic content and antioxidant capacity of dark fruit juices in refrigerated storage. *Food Chemistry*, Vol. 113, issue 2, p. 394-400.

234. Pinelo M., Rubilar M., Sineiro J., Nunez M. J. (2004) Extraction of antioxidant phenolics from almond hulls (*Prunus amygdalus*) and pine sawdust (*Pinus pinaster*). *Food Chemistry*, Vol. 85, issue 2, p. 267-273.
235. PISOCHI A. M., Cheregi M. C., Danet A. I. (2009) Total antioxidant capacity of some commercial fruit juices: Electrochemical and spectrophotometrical approaches. *Journal of Molecules*, Vol. 14, p. 480-493.
236. Plumb G. W., Price K. R., Williamson G. (1999) Antioxidant properties of flavonol glycosides from green beans. *Redox Report*, Vol. 4, p. 123-127.
237. Pokorny J. (2000) Chapter 1. Introduction. **In:** *Antioxidants in Food*. Edited by: J. Pokorny, N. Yanishlieva, M. Gordon. Boca Raton: CRC Press LLC. 373 p. ISBN 0-8493-1222-1
238. Pokorny J. (2007) Are natural antioxidants better – and safer – than synthetic antioxidants? *European Journal of Lipid Science and Technology*, Vol. 109, p. 629-642.
239. Prasad K. N., Yang B., Yang S., Chen Y., Zhao M., Ashraf M., Jiang Y. (2009) Identification of phenolic compounds and appraisal of antioxidant and antityrosinase activities from litchi (*Litchi sinensis Sonn.*) seeds. *Food Chemistry*, Vol. 116, issue 1, p. 1-7.
240. *Prasības pārtikas kvalitātes shēmām, to ieviešanas, darbības, uzraudzības un kontroles kārtība* (2014): LR Ministru kabineta noteikumi Nr.461, Rīgā 2014.gada 12.augustā (prot. Nr.43 14.§) [tiešsaite] [skatīts 30.12.2014.]. Pieejams: [http://http://www.likumi.lv/doc.php?id=268347#](http://www.likumi.lv/doc.php?id=268347#)
241. Prior R. L. (2014) Oxygen radical absorbance capacity (ORAC): New horizons in relating dietary antioxidants/bioactives and health benefits. *Journal of Functional Foods*. In Press, Corrected Proof. Available online 30 December 2014.
242. Prior R. L., Gu L. (2005) Occurrence and biological significance of proanthocyanidins in the American diet. *Phytochemistry*, Vol. 66, p. 2264-2280.
243. Proestos C., Sereli D., Komaitis M. (2010) Determination of phenolic compounds in aromatic plants by RP-HPLC and GC-MS. *Journal of Functional Foods*, Vol. 2, p. 158-162.
244. Proteggente A. R., Wiseman S., van de Put F. H. M. M., Rice-Evans C. A. (2003) Chapter 3. The Relationship Between the Phenolic Composition and the Antioxidant Activity of Fruits and Vegetables. **In:** *Flavonoids in Health and Disease*. Edited by: C.A. Rice-Evans, L. Packer. Boca Raton: CRC Press.
245. Pukalskas A., Venskutonis P. R., Dijkgraaf I., van Beek T. A. (2010) Isolation, identification and activity of natural antioxidants from costmary (*Chrysanthemum balsamita*) cultivated in Lithuania. *Food Chemistry*, Vol. 122, issue 3, p. 804-811.
246. Raghavan U. S. (2000) A to Z spices. **In:** *Handbook of Spices, Seasonings, and Flavorings*. Edited by: U.S. Raghavan, Boca Raton, FL: CRC Press LLC. p. 59-60.
247. Rammanathan L., Das N. P. (1993) Natural products inhibit oxidative rancidity in salted, cooked, ground fish. *Journal of Food Science*, Vol. 58, p. 318-320.
248. Rastogi S. C., Johansen J. D., Bossi R. (2007) Selected important fragrance sensitizers in perfumes – current exposures. Vol. 56, issue 4, p. 201-204. DOI:10.1111/j.1600-0536.2007.01067.x
249. Re R., Pellegrini N., Proteggente A., Pannala A., Yang M., Rice-Evans C. (1999) Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Radical Biology and Medicine*, Vol. 26, p. 1231-1237.

250. Reische D. W., Lillard D. A., Eitenmiller R. R. (2002) Antioxidants. **In:** *Food Lipids: Chemistry, Nutrition, and Biotechnology*. Edited by: C.C. Akoh, D.M. Min. 2nd edition. Boca Raton, FL: CRC Press, p. 489-516.
251. Rice-Evans C. A., Miller N. J., Paganga G. (1996) Structure-antioxidant activity relationships of flavonoids and phenolic acids. *Free Radic Biology and Medicine*, Vol. 20, p. 933-956.
252. Richard-Forget F., Gaillard F., Hugues M., Jean-Marc T., Boivin P., Nicolas J. (1995) Inhibition of horse bean and germinated barley lipoxygenase by some phenolic compounds. *Journal of Food Science*, Vol. 60, p. 1325-1329.
253. Rickman J. C., Barrett D. M., Bruhn C. M. (2007) Nutritional comparison of fresh, frozen and canned fruits and vegetables. Vitamins C and B and phenolic compounds. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, No. 87, issue 6, p. 930-944.
254. Rietjens I. M. C. M., Boersma M. G., de Haan L., Spenkeliink B., Awad H. M., Cnubben N. H. P., van Zanden J. J., van der Woude H., Alink G. M., Koeman J. H. (2002) The pro-oxidant chemistry of the natural antioxidants vitamin C, vitamin E, carotenoids and flavonoids. *Environmental Toxicology and Pharmacology*, Vol. 11, issue 3-4, p. 321-333. DOI:10.1016/S1382-6689(02)00003-0
255. Robbins R. J. (2003) Phenolic acids in foods: An overview of analytical methodology. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, Vol. 51, p. 2866-2887.
256. Rodrigues J., Miranda I., Furquim L., Gominho J., Vasconcelos M., Barradas G., Pereira H., Bianchi-de-Aguiar F., Ferreira-Dias S. (2015) Storage stability of *Jatropha curcas* L. oil naturally rich in gamma-tocopherol. *Industrial Crops and Products*, Vol. 64, p. 188-193. DOI:10.1016/j.indcrop.2014.10.048
257. Rodriguez-Meizoso I., Marin F.R., Herrero M., Señorans F. J., Reglero G., Cifuentes A. (2006) Subcritical water extraction of nutraceuticals with antioxidant activity from oregano. Chemical and functional characterization. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, Vol. 41, issue 5, p. 1560-1565. DOI:10.1016/j.jpba.2006.01.018
258. Ross K. A., Beta T., Arntfield S. D. (2009) A comparative study on the phenolic acids identified and quantified in dry beans using HPLC as affected by different extraction and hydrolysis methods. *Food Chemistry*, Vol. 113, p. 336-344.
259. Rostagno M. A., Palma M., Barroso C. G. (2003) Ultrasound-assisted extraction of soy isoflavones. *Journal of Chromatography A*, Vol. 1012, issue 2, p. 119-128.
260. Roy M. K., Takenaka M., Isobe S., Tsushida T. (2007) Antioxidant potential, antiproliferative activities and phenolic content in water-soluble fractions of some commonly consumed vegetables: effects of thermal treatment. *Food Chemistry*, Vol. 103, p. 106-114.
261. Şahin S., Şamlı R. (2013) Optimization of olive leaf extract obtained by ultrasound-assisted extraction with response surface methodology. *Ultrasonics Sonochemistry*, Vol. 20, p. 595-602.
262. Sakagami H., Satoh K., Fukuchi K., Gomi K., Takeda M. (1997) Effect of an Iron-Chelator on Ascorbate-Induced Cytotoxicity. *Free Radical Biology and Medicine*, Vol. 23, issue 2, p. 260-270. DOI:10.1016/S0891-5849(96)00621-1
263. Santas J., Carbó R., Gordon M. H., Almajano M. P. (2009) Comparison of the antioxidant activity of two Spanish onion varieties. *Food Chemistry*, Vol. 107, issue 3, p. 1210-1216.
264. Schaich K. M. (2006) Developing a rational basis for selection of antioxidant screening and testing methods. *Acta Horticulturae*, Vol. 709, p. 79-94.



265. Schieber A., Stintzing F. C., Carle R. (2001) By-products of plant food processing as a source of functional compounds-recent developments. *Trends in Food Science & Technology*, Vol. 12, p. 401-413. Pieejams arī: [http://dx.doi.org/10.1016/S0924-2244\(02\)00012-2](http://dx.doi.org/10.1016/S0924-2244(02)00012-2)
266. Sellmani I. H., Wannan W. A., Bettaieb I., Berrima S., Chahed T., Marzouk B., Limam F. (2011) Qualitative and quantitative changes in the essential oil of *Laurus nobilis* L. leaves as affected by different drying methods. *Food Chemistry*, Vol. 126, p. 691-697.
267. Shahidi F. (2000) Antioxidants in food and food antioxidants. *Nahrung*, Vol. 44, p. 158-163.
268. Shahidi F. (2002) Antioxidants in plants and oleaginous seeds. **In:** *Free Radicals in Food. Chemistry, Nutrition, and Health Effects*. Edited by: M.J. Morello, F. Shahidi, C.-T. Ho. ACS Symposium Series 807. Washington DC: American Chemical Society, p. 162-175.
269. Shahidi F., Zhong Y. (2011) Revisiting the polar paradox theory: a critical overview. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, Vol. 59, p. 3499-3504.
270. Shyu Y. S., Lin J. T., Chang Y. T., Chiang C. J., Yang D. J. (2009) Evaluation of antioxidant ability of ethanolic extract from dill (*Anethum graveolens* L.) flower. *Food Chemistry*, Vol. 115, p. 515-521.
271. Singh N., Rajini P. S. (2004) Free radical scavenging activity of an aqueous extract of potato peel. *Food Chemistry*, Vol. 85, p. 611-616.
272. Singleton V. L., Orthofer R., Lamuela-Raventos R. M. (1999) Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of Folin-Ciocalteu reagent. *Methods in Enzymology*, Vol. 29, p. 152-178.
273. Sinha N. K. (2011) *Handbook of Vegetables and Vegetable Processing*. Edited by: N.K. Sinha. Hoboken, NJ: A John Wiley & Sons, Ltd., Publication. ISBN-13: 978-0-8138-1541-1/2011.
274. Siriamornpun S., Kaisoon O., Meeso N. (2012) Changes in colour, antioxidant activities and carotenoids (lycopene, b-carotene, lutein) of marigold flower (*Tagetes erecta* L.) resulting from different drying processes. *Journal of Functional Foods*, Vol. 4, p. 757-766.
275. Skibola C. F., Smith M. (2000) Potential health impacts of excessive flavonoid intake. *Free Radical Biology and Medicine*, Vol. 29, p. 375-383.
276. Śledź M., Nowacka M., Wiktor A., Witrowa-Rajchert D. (2013) Selected chemical and physico-chemical properties of microwave-convective dried herbs. *Food and Bioproducts Processing*, Vol. 91, issue 4, p. 422-428.
277. Smith-Spangler C., Brandeau M. L., Hunter G. E., Bavinger J. C., Pearson M., Eschbach P. J., Sundaram V. Liu H., Schirmer P., Stave C., Olkin I., Bravata D. M. (2012) Are organic foods safer or healthier than conventional alternatives? *Annals of Internal Medicine*, Vol. 157, issue 5, p. 348-366. DOI:10.7326/0003-4819-157-5-201209040-00007.
278. Spencer J. P. E. (2005) Chapter 13. Classification, Dietary Sources, Absorption, Bioavailability, and Metabolism of Flavonoids. **In:** *Nutrition and Cancer Prevention*. Edited by: A.B. Awad, P.G. Bradford. Boca Raton, FL: CRC Press. DOI: 10.1201/9781420026399.pt5
279. Sulaiman S. F., Yusoff N. A. M., Eldeen I. M., Seow E. M., Sajak A. A. B., Supriatno Ooi K. L. (2011) Correlation between total phenolic and mineral contents with antioxidant activity of eight Malaysian bananas (*Musa* sp.). *Journal of Food Composition*, Vol. 24, p. 1-10.

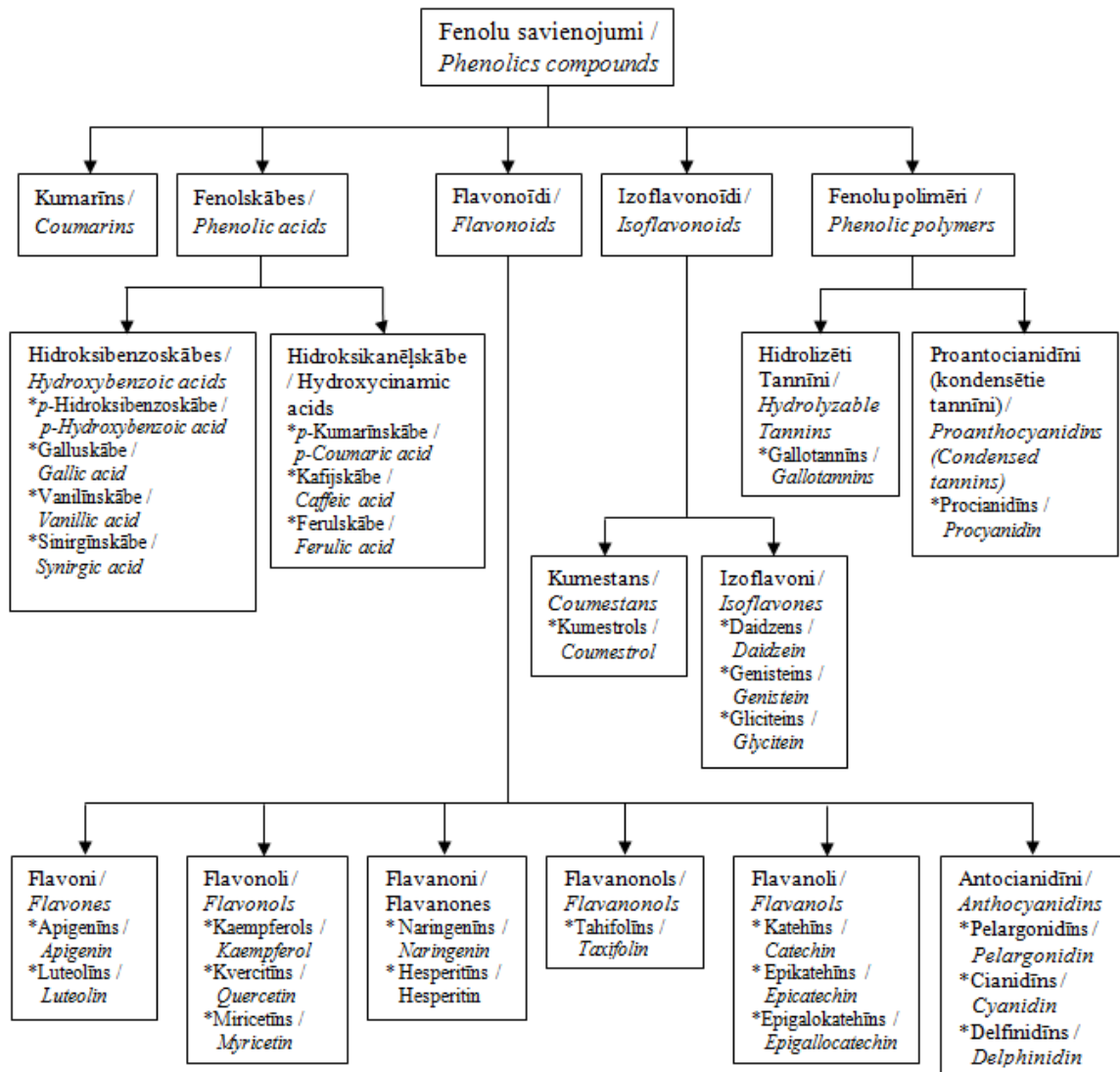
280. Tabaraki R., Nateghi A. (2011) Optimization of ultrasonic-assisted extraction of natural antioxidants from rice bran using response surface methodology. *Ultrasonnd Sonochemistry*, Vol. 18, issue 6, p. 1279-1286. DOI: 10.1016/j.ultsonch.2011.05.004 PII: S1350-4177(11)00097-6
281. Taiwo K. A., Eshtiaghi M. N., Ade-Omowaye B. I. O., Knorr D. (2003) Osmotic dehydration of strawberry halves: influence of osmotic agents and pretreatment methods on mass transfer and product characteristics. *International Journal of Food Science and Technology*, Vol. 38, p. 693-707.
282. Tajkarimi M. M., Ibrahim S. A., Cliver D. O. (2010) Antimicrobial herb and spice compounds in food. *Food Control*, Vol. 21, p. 1199-1218.
283. Therdthai N., Zhou W. (2009) Characterization of microwave vacuum drying and hot air drying of mint leaves (*Mentha cordifolia* Opiz ex Fresen). *Journal of Food Engineering*, Vol. 91, issue 3, p. 482-489.
284. Tirzītis G. (2011) Brīvie radikāļi un antioksidanti. Mīti un šodienas uzskati. *Doctus*, novembris, p. 1-14.
285. Tlili N., Elfalleh W., Saadaoui E., Khaldi A., Triki S., Nasri N. (2011) The caper (*Capparis* L.): Ethnopharmacology, phytochemical and pharmacological properties. *Fitoterapia*, Vol. 82, p. 93-101. DOI:10.1016/j.fitote.2010.09.006.
286. Tobin N. P., Sims A. H., Lundgren K. L., Lehn S., Landberg G. (2011) Cyclin D1, Id1 and EMT in breast cancer. *BMC Cancer*, Vol. 11, p. 417.
287. Torres M. A., Jones J. D. G., Dangl J. L. (2005) Pathogen-induced, NADPH oxidase-derived reactive oxygen intermediates suppress spread of cell death in *Arabidopsis thaliana*. *Nature Genetics*, Vol. 37, p. 1130-1134.
288. Traverso M. E., Subramanian P., Davydov R., Hoffman B. M., Stemmler T. L., Rosenzweig A. C. (2010) Identification of a hemerythrin-like domain in a P<sub>113</sub>-type transport ATPase. *Biochemistry*, Vol. 49, issue 33, p. 7060-7068.
289. Usai M., Marchetti M., Foddai M., Del Caro V., Desogus R., Sanna I., Piga A. (2011) Influence of different stabilizing operations and storage time on the composition of essential oil of thyme (*Thymus officinalis* L.) and rosemary (*Rosmaninus officinalis* L.). *LWT – Food Science and Teghnology*, Vol. 44, issue 1, p. 244-249.
290. Valls J., Millán S., Martí M. P., Borrás E., Arola L. (2009) Advanced separation methods of food anthocyanins, isoflavones and flavanols. *Journal of Chromatogr A*, Vol. 1216, p. 7143-7172.
291. van Acker S. A., Van-den Berg D. J., Tromp M. N. J. L., Griffioen D. H., van Bennekom W. P., van der Vijgh W. J. F., Bast A. (1995) Structural aspects of antioxidant activity of flavonoids. *Free Radical Biology & Medicine*, Vol. 20, p. 331-342.
292. Velišek J., Cejpek K. (2008) Phenolic compounds. **In:** *Biosynthesis of Food Components*. Edited by: V. Šedivy, OSSIS, p. 314-372.
293. Vematsu M., Franck E. V. (1980) Static dielectric constant of water and steam. *Journal of Physical Chemistry*, Vol. 9, p. 1291.
294. Verhoeven D. T. H., Goldbohm R. A., Poppel G., Verhagen H., Brandt P. A. (1996) Epidemiological studies on *Brassica* vegetables and cancer risk. *Cancer Epidemiol Biomar Preven*, Vol. 5, p. 733-748.
295. Vetrani C., Rivellese A. A., Annuzzi G., Mattila I., Meudec E., Hyötyläinen T., Orešič M., Aura A. M. (2014) Phenolic metabolites as compliance biomarker for polyphenol intake in a randomized controlled human intervention. *Food Research*

- International*, Vol. 63, p. 223-238. Pieejams arī:  
<http://dx.doi.org/10.1016/j.foodres.2014.01.018>
296. Volden J., Bengtsson G. B., Wicklund T. (2009) Glucosinolates, L-ascorbic acid, total phenols, anthocyanins, antioxidant capacities and colour in cauliflower (*Brassica oleracea* L. ssp. *botrytis*); effects of long-term freezer storage. *Food Chemistry*, Vol. 112, issue 4, p. 967-976. DOI:10.1016/j.foodchem.2008.07.018
  297. Vongsak B., Sithisarn P., Mangmool S., Thongpraditchote S., Wongkrajang Y., Gritsanapan W. (2012) Maximizing total phenolics, total flavonoids contents and antioxidant activity of Moringaoleifera leaf extract by the appropriate extraction method. *Industrial Crops and Products*, Vol. 16, issue 2, p. 176-182.
  298. Wang H., Lu Y., Chen J., Li J., Liu S. (2012) Subcritical water extraction of alkaloids in *Sophora flavescens* Ait. and determination by capillary electrophoresis with field-amplified sample stacking. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, Vol. 58, p. 146-151. DOI:10.1016/j.jpba.2011.09.014
  299. Wang J., Sun B., Cao Y., Tian Y., Li X. (2008) Optimisation of ultrasound-assisted extraction of phenolic compounds from wheat bran. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, Vol. 106, p. 804-810.
  300. Wasowicz E., Gramza A., Hżoe M., Jeleń H. H., Korczak J., Malecka M., Mildner-Szkudlarz S., Rudzińska M., Samotyja U., Zawirska-Wojtasiak R. (2004) Oxidation of lipids in food. *Polish Journal of Food and Nutrition sciences*, Vol. 13/54, SI 1, p. 87-100.
  301. Whitmore B. B., Naidu A. S. (2000) Glucosinolates. **In:** *Natural Food Antimicrobial Systems*. Edited by: A.S. Naidu. Boca Raton, FL: CRC Press LLC. p. 1-18.
  302. Wittstock U., Halkier B. A. (2002) Glucosinolate research in the *Arabidopsis* era. *Trends in Plant Science*, Vol. 7, issue 6, p. 263-270. DOI:10.1016/S1360-1385(02)02273-2.
  303. Wojdyo A., Oszmianski J., Czemerys R. (2007) Antioxidant activity and phenolic compounds in 32 selected herbs. *Food Chemistry*, Vol. 105, p. 940-949.
  304. Wolfe K. L., Liu R. H. (2003) Apple peels as a value-added food ingredient. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, Vol. 51, issue 6, p. 1676-1683.
  305. Wong S.-T., Hwang C.-C., Mou C.-Y. (2006) Tungstated zirconia catalyzed bromination of phenol red under nearly neutral solution. *Applied Catalysis B: Environmental*, Vol. 63, issue 1-2, p. 1-8.
  306. Wu R., Frei B., Kennedy J.A., Zhao Y. (2010) Effects of refrigerated storage and processing technologies on the bioactive compounds and antioxidant capacities of 'Marion' and 'Evergreen' blackberries. *Food Science and Technology*, Vol. 43, p. 1253-1264. DOI:10.1016/j.lwt.2010.04.002
  307. Wu T., Yan J., Liu R., Marcone M. F., Aisa H. A., Tsao R. (2012) Optimization of microwave-assisted extraction of phenolics from potato and its downstream waste using orthogonal array design. *Food Chemistry*, Vol. 133, issue 4, p. 1292-1298. DOI : 10.1016/j.foodchem.2011.08.002
  308. Xing R., Yu H. H., Liu S., Zhang W. W., Zhang Q. B., Li Z. E. (2005) Antioxidant activity of differently regioselective chitosan sulfates in vitro. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, Vol. 13, p. 1387-1392.
  309. Yang J., Chen J., Zhao Y., Mao L. (2010) Effects of Drying Processes on the Antioxidant Properties in Sweet Potatoes. *Agricultural Sciences in China*, Vol. 9, issue 10, p. 1522-1529.

310. Yanishlieva-Maslarova N. V. (2000) Chapter 3. Inhibiting oxidation. **In:** *Antioxidants in Food*. Edited by: J. Pokorny, N. Yanishlieva, M. Gordon. Boca Raton FL: CRC Press LLC, p. 22-71. ISBN 0-8493-1222-1
311. Yen G. C., Chen H. Y. (1995) Antioxidant activity of various tea extracts in relation to their antimutagenicity. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, Vol. 43, p. 27-32.
312. Yen S., Shea M. T., Pagano M., Sanislow C. A., Grilo C. M., McGlashan T. H., Skodol A. E., Bender D. S., Zanarini M. C., Gunderson J. G., Morey L. C. (2003) Axis I and Axis II disorders as predictors of prospective suicide attempts: Findings from the Collaborative Longitudinal Personality Disorders Study. *Journal of Abnormal Psychology*, Vol. 112, p. 375-381.
313. Yildirim A., Mavi A., Oktay M., Kara A. A., Algur F., Bilaloglu V. (2000) Comparison of antioxidant and antimicrobial activities of Tilia (*Tilia Argentea Desf Ex DC*), Sage (*Salvia triloba L.*), and Black Tea (*Camellia sinensis*) extracts. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, Vol. 48, p. 5030-5034.
314. Yu L., Haley S., Perret J., Harris M., Wilson J., Haley S. (2003) Antioxidant properties of bran extracts from Akron wheat grown at different locations. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, Vol. 51, p. 1566-1570.
315. Zadernowski R., Czaplicki S., Naczki M. (2009) Phenolic acid profiles of mangosteen fruits (*Garcinia mangostana*). *Food Chemistry*, Vol. 112, p. 685-689.
316. Zhao H., Fan W., Dong J., Lu J., Chen J., Shan L., Lin Y., Kong W. (2008) Evaluation of antioxidant activities and total phenolic contents of typical malting barley varieties. *Food Chemistry*, Vol. 107, p. 296-304.
317. Zou L., Akoh C. C. (2015) Antioxidant activities of annatto and palm tocotrienol-rich fractions in fish oil and structured lipid-based infant formula emulsion. *Food Chemistry*, Vol. 168, p. 504-511. DOI: 10.1016/j.foodchem.2014.07.098
318. Zrybko C. L., Fukuda E. K., Rosen R. T. (1997) Determination of glucosinolates in domestic and wild mustard by high-performance liquid chromatography and photodiode-array detection. *Journal of Chromatography A*, Vol. 767, p. 43-52.

**PIELIKUMI / APPENDIXES**

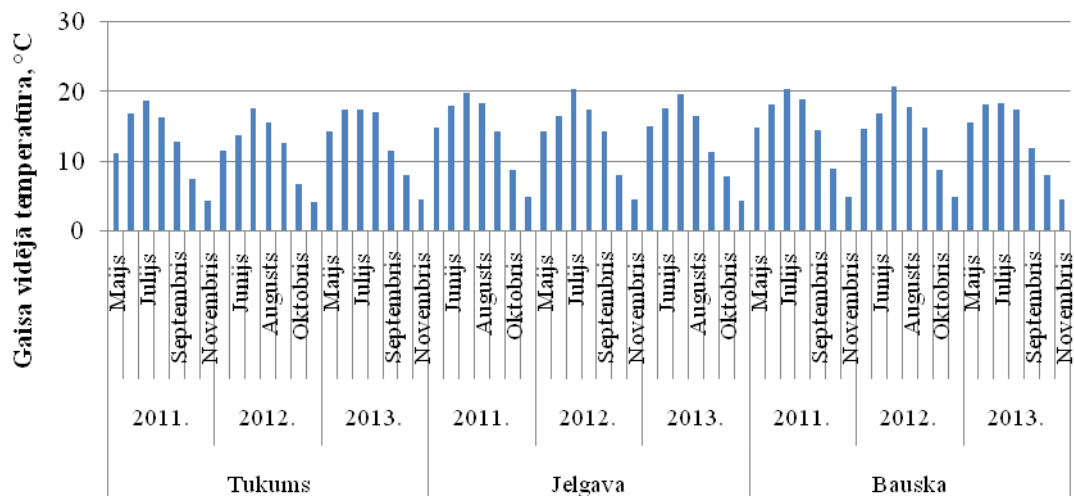
## 1. pielikums / Appendix 1



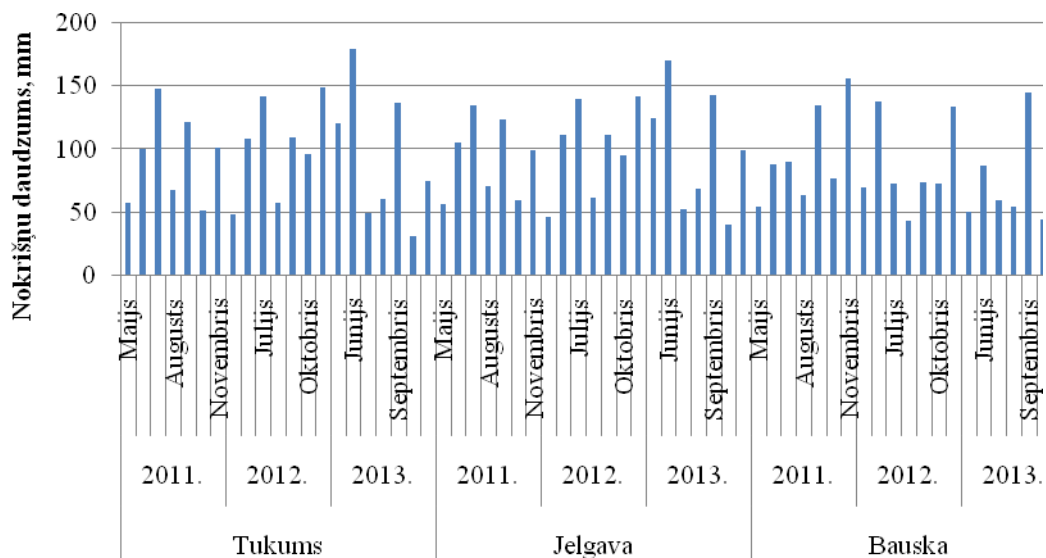
**Uztura fenolu klasifikācijas kopsavilkums / Classification of dietary phenolics (Liu, 2004).**

## 2. pielikums / Appendix 2

### Vidējā temperatūra un nokrišņi mārrutku un lupstāju veģetācijas laikā / The average temperature and precipitation horseradish and lovage during vegetation



2.1. att. Vidējās temperatūras 2011. – 2013.gados /  
The average temperature in 2011 – 2013



2.2. att. Nokrišņi 2011. – 2013.gados /  
The precipitation in 2011 – 2013

### 3. pielikums / Appendix 3

**Augstefektīvās šķidrums hromatogrāfijas metodes parametri fenolu savienojumu analīzēm /  
Parameters of high performance liquid chromatograph for analysis of phenol compounds**

Nr.p. k. / No.	Parametri / Parameters	Rādītāji / Indicators
1.	AEŠH colonna / HPLC column	PerkinElmer C18, 4.6 mm – 250 mm, daļiņu izmērs 5 μm
2.	Detektors / Detector	DAD SPD – M20A
3.	Kolonnas temperatūra / Column temperature	+30 °C
4.	Parauga injekcijas tilpums / Injection volume	10 μl
5.	Šķidrā fāze / Mobile phase	A – metanols (20%); B – dejonizētais ūdens (78.4%); C – ledusētiķskābe – (1.6%). Sākot no 17.5 min eluenta A koncentrācijai 40.3%; eluenta B koncentrācijai 58.5% un eluenta C koncentrācijai 1.2%.
6.	Eluēšanas veids / Type of elution	gradienta režīms
7.	Šķidrās fāzes plūsmas ātrums / Mobile phase flow	1 ml min <sup>-1</sup>
8.	Kopējais parauga analizēšanas laiks / Total run time	35 min
9.	Viļņu garumi / Wave length	253 nm (4-hidroksibenzoskābes un rufīna noteikšanai); 268 nm (galluskābes noteikšanai); 278 nm (katehīna, kafijskābes, vanilīnskābes un sinirgīnskābes noteikšanai); 298 nm (hlorogēnskābes, epikatehīna, kumarīnskābes, sinapīnskābes un ferulskābes noteikšanai)



#### 4. pielikums / Appendix 4

##### Standartvielu raksturojums / Characterization of standard substances

Nr. / No.	Standartviela / Standard substance	Tīrības pakāpe / Degree of purity, %	Ražotājs / Producer	Ražotājvalsts / Country of production
1.	<i>p</i> -hidroksibenzoskābe / <i>p</i> -hydroxybenzoic acid	≥ 99.0	Sigma-Aldrich	Vācija / Germany
2.	(+) – katehīni / (+) – catechin Hydrate	≥96.0	Sigma-Aldrich	Japāna / Japan
3.	Ferulskābe / Ferulic acid	≥99.0	Fluca Analytical	ASV / USA
4.	Epikatehīni / Epicatechin	≥90.0	Sigma-Aldrich	Indija / India
5.	Sinapīnskābe / Sinapic acid	≥98.0	Sigma-Aldrich	Indija / India
6.	<i>p</i> -kumarīnskābe / <i>p</i> -coumaric acid	≥98.0	Sigma-Aldrich	Lielbritānija / UK
7.	Kafijskābe / Caffeic acid	≥98.0	Sigma-Aldrich	Šveice / Switzerland
8.	Hlorogēnskābe / Chlorogenic acid hemihydrate	≥98.0	Sigma-Aldrich	Indija / India
9.	Ceriņskābe / Syringic acid	≥95.0	Sigma-Aldrich	Lielbritānija / UK
10.	Vanilīnskābe / Vanillin	≥98.0	Fluca Analytical	Francija / France
11.	Galluskābe / Gallic acid	≥97.5	Sigma-Aldrich	Ķīna / China
12.	Rutīns / Rutin	≥94	Sigma-Aldrich	Vācija / Germany

**Mārrutku saknēs identificētie gaistošie savienojumi (%) atkarībā no genotipa /  
The identified volatile compounds (%) in horseradish roots depending on the genotype**

Savienojumi / Compounds	RT	G12B	G2	G105	G1	G280	G104	G281	G3	G106
n.i.	4.11	0.02±0.00	0.03±0.01	0.04±0.01	0.06±0.01	0.04±0.00	0.04±0.03	0.09±0.08	0.02±0.00	0.24±0.03
2- BuITC	20.07	1.82±0.06	0.81±0.13	1.92±0.03	2.00±0.09	2.81±0.01	1.01±0.34	1.32±0.03	1.18±0.02	2.15±0.41
IBuITC	21.50	n.d.	n.d.	0.14±0.02	0.10±0.01	n.d.	0.08±0.00	n.d.	0.21±0.06	0.06±0.05
AITC	22.71	75.61±0.07	68.99±0.17	74.46±0.09	81.82±0.73	79.10±0.01	69.65±0.81	73.85±0.98	71.34±0.56	63.60±0.25
3-metilbutil ITC / 3-methylbutyl ITC	24.08	14.58±0.02	11.11±0.05	12.62±0.14	5.14±0.05	12.74±0.10	11.53±0.01	11.23±0.57	2.64±0.06	6.38±0.08
3-butenil ITC / 3-butenyl ITC	24.74	0.48±0.01	0.34±0.01	0.42±0.07	0.53±0.01	0.28±0.01	0.33±0.05	0.43±0.08	0.41±0.03	0.20±0.07
Pentil ITC / Pentyl ITC	25.35	0.10±0.01	0.21±0.02	0.02±0.04	0.11±0.01	0.04±0.00	0.16±0.00	0.07±0.01	0.30±0.01	n.d.
CPITC	26.56	2.10±0.01	2.82±0.09	0.37±0.11	3.20±0.06	0.26±0.01	2.20±0.10	0.39±0.15	4.36±0.34	0.69±0.07
n.i.	28.86	0.11±0.01	0.14±0.03	0.02±0.02	0.13±0.03	0.02±0.00	0.08±0.01	0.03±0.00	0.33±0.04	0.04±0.01
n.i.	32.23	0.01±0.01	n.d.	0.01±0.00	0.08±0.01	n.d.	0.01±0.00	n.d.	0.29±0.01	0.01±0.00
n.i.	32.81	n.d.	0.02±0.00	0.05±0.01	0.01±0.00	n.d.	0.04±0.00	0.05±0.01	n.d.	0.13±0.00
n.i.	34.04	0.05±0.00	0.45±0.03	0.03±0.00	0.13±0.09	0.09±0.00	0.54±0.02	0.03±0.00	0.14±0.02	n.d.
BITC	35.96	0.25±0.02	0.36±0.04	0.32±0.05	0.31±0.08	0.33±0.01	0.50±0.01	0.35±0.02	0.76±0.01	0.65±0.02
2- PETC	38.49	4.83±0.11	14.58±0.45	9.49±0.51	6.26±0.08	4.22±0.06	13.74±0.29	11.89±0.67	17.70±0.37	25.74±0.26
Citi / Other		0.05±0.00	0.12±0.01	0.06±0.01	0.10±0.00	0.06±0.01	0.11±0.03	0.29±0.03	0.31±0.04	0.11±0.01

RT – aiztures laiks / retention time; n.i. – nav identificēts / not identified; n.d. – nav noteikts / not detected

Korelācijas matrica starp identificētajiem gaistošajiem savienojumiem mārrutku saknēs /  
*Correlation matrix among the identified volatile compounds of horseradish roots*

Savienojumi / Compounds	n.i. (4.11)	2- BuITC	IBuITC	AITC	3-metilbutil ITC / 3-methylbutyl ITC	3-butenil ITC / 3-butenyl ITC	Pentil ITC / Pentyl ITC	CPITC	n.i. (28.86)	n.i. (32.23)	n.i. (32.81)	n.i. (34.04)	BITC
n.i. (4.11)	<b>1</b>	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×
2- BuITC	0.14	<b>1</b>	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×
IBuITC	-0.02	-0.17	<b>1</b>	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×
AITC	-0.34	0.29	0.01	<b>1</b>	×	×	×	×	×	×	×	×	×
3-metilbutil ITC / 3-methylbutyl ITC	-0.18	0.06	-0.56**	0.28	<b>1</b>	×	×	×	×	×	×	×	×
3-butenil ITC / 3-butenyl ITC	-0.30	-0.21	0.26	0.69**	0.09	<b>1</b>	×	×	×	×	×	×	×
Pentil ITC / Pentyl ITC	-0.49**	-0.68**	0.39*	-0.09	-0.40*	0.21	<b>1</b>	×	×	×	×	×	×
CPITC	-0.37	-0.49*	0.45*	0.01	-0.57**	0.35	0.87**	<b>1</b>	×	×	×	×	×
n.i. (28.86)	-0.36	-0.423*	0.56**	-0.07	-0.61**	0.25	0.88**	0.91**	<b>1</b>	×	×	×	×
n.i. (32.23)	-0.22	-0.22	0.73**	0.04	-0.71**	0.25	0.69**	0.72**	0.90**	<b>1</b>	×	×	×
n.i. (32.81)	0.50**	0.18	-0.013	-0.73**	-0.28	-0.65**	-0.44*	-0.38	-0.36	-0.28	<b>1</b>	×	×
n.i. (34.04)	-0.29	-0.62**	-0.02	-0.245	0.07	-0.11	0.55**	0.40*	0.21	-0.07	-0.19	<b>1</b>	×
BITC	0.17	-0.14	0.43*	-0.71**	-0.75**	-0.50**	0.37	0.34	0.51**	0.57**	0.49**	0.08	<b>1</b>
2- PETC	0.43*	-0.21	0.18	-0.93**	-0.60**	-0.63**	0.12	0.09	0.19	0.17	0.78**	0.10	0.85**

n.i. – nav identificēts / not identified; \*Nozīmīgums/Significant at  $p < 0,05$ ; \*\*Nozīmīgums/Significant at  $p < 0,01$ .

7. pielikums / Appendix 7

KFS lupstāju sakņu, kātu un lapu ekstraktos atkarībā no šķīdinātāja un ekstrakcijas metodes / TPC in extracts of lovage roots, stems and leaves depending on extraction solvent and method, mg GAE 100g<sup>-1</sup> sausnas / DW

Lupstāju genotips / Genotype of lovage	Auga daļa / Part of plant	Šķīdinātāji / Solvents	CONV	SOXE
L1	sakne / root	ET	286.08±1.48 <sup>f,g,h</sup>	470.59±3.25 <sup>e,f,g,h</sup>
		EWA	206.16±1.61 <sup>d,e,f</sup>	273.15±0.79 <sup>c,d,e</sup>
		EW	214.83±1.55 <sup>e,f</sup>	374.66±0.86 <sup>d,e,f</sup>
	kāti / stems	HE	22.81±2.13 <sup>a</sup>	40.37±2.63 <sup>a,b</sup>
		DI	100.59±2.88 <sup>a,b,c</sup>	336.55±2.12 <sup>d,e,f</sup>
		PR	240.52±3.74 <sup>f,g</sup>	362.86±3.66 <sup>d,e,f</sup>
		AC	249.09±1.65 <sup>f,g</sup>	687.30±5.08 <sup>ij</sup>
		ET	618.06±3.76 <sup>i</sup>	716.15±3.25 <sup>j</sup>
		EWA	236.52±4.45 <sup>f,g</sup>	656.06±2.55 <sup>h,i,j</sup>
	lapas / leaves	EW	345.95±2.21 <sup>h</sup>	1050.14±4.37 <sup>k</sup>
		HE	22.83±1.94 <sup>a</sup>	39.31±1.65 <sup>a</sup>
		DI	40.39±2.81 <sup>a</sup>	251.45±4.81 <sup>b,c,d</sup>
		PR	630.84±5.08 <sup>i</sup>	1696.92±6.87 <sup>l</sup>
		AC	796.56±6.29 <sup>j</sup>	1816.52±2.94 <sup>l</sup>
		ET	784.30±4.38 <sup>j</sup>	2099.74±2.34 <sup>m</sup>
EWA		935.10±4.50 <sup>k</sup>	2254.57±3.23 <sup>m,n</sup>	
EW	1287.82±2.78 <sup>l</sup>	2327.68±4.03 <sup>n</sup>		
L2	sakne / root	HE	64.55±1.01 <sup>a,b</sup>	36.15±0.70 <sup>a</sup>
		DI	93.07±1.38 <sup>a,b</sup>	124.14±3.55 <sup>a,b,c</sup>
		PR	126.25±4.82 <sup>b,c,d</sup>	121.59±1.37 <sup>a,b,c</sup>
		AC	128.94±0.60 <sup>b,c,d</sup>	275.09±2.14 <sup>c,d,e</sup>
		ET	153.01±0.86 <sup>c,d,e</sup>	518.69±1.48 <sup>f,g,h,i,j</sup>
		EWA	240.46±3.78 <sup>f,g</sup>	281.09±3.90 <sup>c,d,e</sup>
	kāti / stems	EW	149.61±0.66 <sup>c,d,e</sup>	381.10±2.91 <sup>d,e,f</sup>
		ET	585.11±6.50 <sup>i</sup>	415.81±1.19 <sup>d,e,f,g</sup>
		EWA	336.80±4.51 <sup>f,g</sup>	683.65±1.97 <sup>ij</sup>
L3	sakne / root	EW	450.39±5.08 <sup>h</sup>	687.13±0.96 <sup>ij</sup>
		ET	316.74±2.47 <sup>g,h</sup>	601.24±3.61 <sup>g,h,i,j</sup>
		EWA	261.63±2.07 <sup>f,g</sup>	475.75±4.63 <sup>e,f,g,h,i</sup>
	kāti / stems	EW	300.12±3.56 <sup>g,h</sup>	533.07±4.57 <sup>f,g,h,i,j</sup>
		ET	509.43±6.07 <sup>i</sup>	523.59±3.86 <sup>f,g,h,i,j</sup>
		EWA	199.94±2.83 <sup>f,g</sup>	374.66±4.57 <sup>d,e,f</sup>
EW	463.01±5.08 <sup>h</sup>	429.78±5.01 <sup>d,e,f,g</sup>		

8. pielikums / Appendix 8

**KFIS lupstāju sakņu, kātu un lapu ekstraktos atkarībā no šķīdinātāja un ekstrakcijas metodes / TFC in extracts of lovage roots, stems and leaves depending on extraction solvent and method, mg CE 100g<sup>-1</sup> sausnas / DW**

Lupstāju genotips / Genotype of lovage	Auga daļa / Part of plant	Šķīdinātāji / Solvents	CONV	SOXE	
L1	sakne / root	ET	331.48±4.52 <sup>b,c</sup>	719.02±1.38 <sup>b,c,d</sup>	
		EWA	294.28±1.04 <sup>a,b</sup>	572.75±2.71 <sup>a,b,c</sup>	
		EW	305.22±1.72 <sup>a,b</sup>	587.34±2.54 <sup>a,b,c</sup>	
	kāti / stems	PR	506.14±5.54 <sup>e,f</sup>	1885.59±7.27 <sup>e</sup>	
		AC	589.15±3.90 <sup>f,g</sup>	2852.02±4.54 <sup>f</sup>	
		ET	816.93±2.31 <sup>h</sup>	5521.79±4.37 <sup>l,j</sup>	
		EWA	417.57±3.91 <sup>c,d</sup>	3050.73±2.09 <sup>f</sup>	
	lapas / leaves	EW	645.40±1.32 <sup>g</sup>	3977.58±5.45 <sup>g</sup>	
		PR	1089.31±3.27 <sup>i</sup>	4781.83±4.25 <sup>h</sup>	
		AC	2137.43±6.62 <sup>k</sup>	6058.32±7.06 <sup>j</sup>	
		ET	2591.12±7.36 <sup>m</sup>	8577.94±7.71 <sup>k</sup>	
		EWA	1565.44±3.68 <sup>j</sup>	5049.13±5.13 <sup>h,i</sup>	
	L2	sakne / root	EW	2331.72±5.34 <sup>l</sup>	4890.48±2.92 <sup>h</sup>
			HE	229.57±2.65 <sup>a</sup>	99.95±1.27 <sup>a</sup>
			DI	307.22±3.92 <sup>b</sup>	379.37±5.17 <sup>a,b</sup>
PR			531.77±2.59 <sup>e,f</sup>	403.25±5.25 <sup>a,b,a,b</sup>	
AC			583.00±5.14 <sup>f,g</sup>	551.39±4.52 <sup>a,b,c</sup>	
ET			370.65±7.06 <sup>b,c</sup>	932.50±5.01 <sup>b,c,d</sup>	
kāti / stems		EWA	492.85±5.87 <sup>d,e</sup>	653.64±1.23 <sup>a,b,c</sup>	
		EW	314.37±5.49 <sup>a,b</sup>	735.93±3.44 <sup>b,c,d</sup>	
		ET	792.45±6.28 <sup>h</sup>	331.37±2.76 <sup>a,b</sup>	
		EWA	543.70±5.93 <sup>c,d</sup>	632.93±3.46 <sup>a,b,c</sup>	
		EW	705.08±7.11 <sup>g</sup>	654.35±3.38 <sup>a,b,c</sup>	
		L3	sakne / root	ET	874.51±1.94 <sup>h</sup>
EWA	344.76±4.43 <sup>a,b</sup>			862.03±7.90 <sup>b,c,d</sup>	
EW	413.65±5.15 <sup>a,b</sup>			879.65±6.91 <sup>b,c,d</sup>	
kāti / stems	ET		673.28±6.21 <sup>h</sup>	1057.07±5.61 <sup>c,d</sup>	
	EWA		509.81±5.75 <sup>c,d</sup>	649.13±3.70 <sup>a,b,c</sup>	
	EW		542.43±5.29 <sup>g</sup>	671.90±2.95 <sup>a,b,c,d</sup>	

**Antiradikālā aktivitāte lupstāju sakņu, kātu un lapu ekstraktos atkarībā no  
šķīdinātāja un ekstrakcijas metodes / Scavenging activity of extracts of lovage  
roots, stems and leaves depending on extraction solvent and method,  
mM TE 100 g<sup>-1</sup> sausnas / DW**

Lupstāju genotips / Genotype of lovage	Auga daļa / Part of plant	Šķīdinātāji / Solvents	DPPH <sup>•</sup>		ABTS <sup>•+</sup>	
			CONV	SOXE	CONV	SOXE
L1	sakne / root	ET	10.56±0.12 <sup>e,f</sup>	21.62±0.10 <sup>a</sup>	9.67±0.26 <sup>a,b</sup>	20.09±0.40 <sup>a</sup>
		EWA	7.93±0.08 <sup>c</sup>	21.53±0.07 <sup>a</sup>	8.86±0.33 <sup>a,b</sup>	19.76±0.71 <sup>a</sup>
		EW	11.03±0.04 <sup>e,f</sup>	21.59±0.08 <sup>a</sup>	7.94±0.38 <sup>a,b</sup>	18.55±0.72 <sup>a</sup>
	kāti / stems	HE	12.09±0.50 <sup>f</sup>	73.16±0.51 <sup>f,g,h</sup>	n.d.	n.d.
		DI	10.94±0.16 <sup>e,f</sup>	69.02±1.59 <sup>e,f,g</sup>	n.d.	n.d.
		PR	15.15±0.36 <sup>g,h</sup>	90.50±2.26 <sup>h,i,j</sup>	27.35±0.95 <sup>a,b,c</sup>	70.69±2.19 <sup>a,b,c,d</sup>
		AC	15.00±0.29 <sup>g</sup>	90.99±1.19 <sup>h,i,j</sup>	44.82±1.75 <sup>c,d,e</sup>	115.17±2.04 <sup>b,c,d</sup>
		ET	16.77±0.67 <sup>h,i</sup>	93.96±2.38 <sup>i,j</sup>	70.23±2.81 <sup>e,f,g</sup>	252.89±2.40 <sup>d</sup>
		EWA	15.17±0.51 <sup>g,h</sup>	92.37±2.55 <sup>i,j</sup>	65.18±2.70 <sup>d,e,f</sup>	281.38±4.60 <sup>d</sup>
		EW	17.17±0.21 <sup>i</sup>	95.36±2.30 <sup>i,j</sup>	179.98±5.93 <sup>h</sup>	623.42±4.88 <sup>g</sup>
	lapas / leaves	HE	9.87±0.81 <sup>d,e</sup>	78.22±2.88 <sup>g,h,i</sup>	n.d.	n.d.
		DI	7.37±0.50 <sup>c</sup>	78.06±3.14 <sup>g,h,i</sup>	n.d.	n.d.
		PR	18.47±0.20 <sup>i,j</sup>	98.72±4.19 <sup>j</sup>	36.15±0.70 <sup>b,c,d</sup>	126.31±1.45 <sup>d</sup>
		AC	19.37±0.42 <sup>j</sup>	101.98±2.44 <sup>j</sup>	26.00±0.10 <sup>a,b,c</sup>	120.35±2.74 <sup>c,d</sup>
		ET	19.78±0.96 <sup>j</sup>	137.05±2.81 <sup>k</sup>	74.46±0.64 <sup>e,f,g</sup>	406.94±3.01 <sup>f</sup>
		EWA	34.30±0.48 <sup>k</sup>	168.76±4.31 <sup>l</sup>	88.24±0.82 <sup>f,g</sup>	270.40±4.50 <sup>d</sup>
	EW	35.00±0.86 <sup>k</sup>	165.42±5.14 <sup>l</sup>	100.59±0.98 <sup>g</sup>	295.83±4.43 <sup>d</sup>	
	L2	sakne / root	HE	0.50±0.07 <sup>a</sup>	22.56±0.09 <sup>a</sup>	0.35±0.01 <sup>a</sup>
DI			n.d.	22.70±0.10 <sup>a</sup>	n.d.	3.16±0.09 <sup>a</sup>
PR			3.05±0.36 <sup>b</sup>	22.81±0.11 <sup>a</sup>	5.88±0.16 <sup>a,b</sup>	7.83±0.66 <sup>a</sup>
AC			2.91±0.26 <sup>b</sup>	26.18±0.02 <sup>a,b</sup>	6.48±0.67 <sup>a,b</sup>	12.08±0.39 <sup>a</sup>
ET			2.93±0.08 <sup>b</sup>	27.13±0.04 <sup>a,b</sup>	8.73±0.08 <sup>a,b</sup>	15.87±1.19 <sup>a</sup>
EWA			7.51±0.27 <sup>c</sup>	29.14±0.15 <sup>a,b</sup>	14.25±0.35 <sup>a,b,c</sup>	17.55±1.25 <sup>a</sup>
EW			3.19±0.24 <sup>b</sup>	32.01±0.10 <sup>a,b</sup>	9.73±0.08 <sup>a,b</sup>	20.66±1.64 <sup>a</sup>
kāti / stems		ET	13.08±0.17 <sup>h,i</sup>	52.08±0.12 <sup>c,d,e</sup>	54.39±0.78 <sup>e,f,g</sup>	3.51±0.61 <sup>a</sup>
		EWA	11.73±0.11 <sup>g,h</sup>	51.84±0.11 <sup>c,d,e</sup>	44.72±0.94 <sup>d,e,f</sup>	24.58±0.93 <sup>a</sup>
L3	sakne / root	ET	7.65±0.09 <sup>c</sup>	37.78±0.35 <sup>a,b,c</sup>	13.29±0.99 <sup>a,b,c</sup>	16.08±0.50 <sup>a</sup>
		EWA	6.21±0.61 <sup>c</sup>	41.99±0.11 <sup>b,c,d</sup>	10.08±0.15 <sup>a,b,c</sup>	22.04±0.84 <sup>a</sup>
		EW	4.08±0.24 <sup>b</sup>	42.92±0.05 <sup>b,c,d</sup>	11.63±0.15 <sup>a,b</sup>	28.41±0.61 <sup>a,b</sup>
	kāti / stems	ET	14.30±0.17 <sup>h,i</sup>	66.20±0.32 <sup>e,f,g</sup>	57.99±0.87 <sup>e,f,g</sup>	25.47±1.72 <sup>a,b</sup>
		EWA	10.94±0.11 <sup>g,h</sup>	56.73±0.55 <sup>d,e,f</sup>	53.80±0.84 <sup>d,e,f</sup>	19.61±1.35 <sup>a</sup>
		EW	8.73±0.09 <sup>i</sup>	57.90±0.07 <sup>d,e,f</sup>	59.01±1.42 <sup>h</sup>	18.46±1.10 <sup>a</sup>

10. pielikums / Appendix 10

Reducēšanas spēja lupstāju sakņu, kātu un lapu ekstraktos atkarībā no  
šķīdinātāja un ekstrakcijas metodes / Reducing power in extracts of lovage roots,  
stems and leaves depending on extraction solvent and method,  
mg AAE 100g<sup>-1</sup> sausnas / DW

Lupstāju genotips / Genotype of lovage	Auga daļa / Part of plant	Šķīdinātāji / Solvents	CONV	SOXE
L1	sakne / root	ET	1721.64±8.48 <sup>g</sup>	3278.71±7.31 <sup>f</sup>
		EWA	1520.46±13.64 <sup>f,g</sup>	3115.70±12.57 <sup>e,f</sup>
		EW	1713.10±12.48 <sup>g</sup>	3136.01±4.22 <sup>e,f</sup>
	kāti / stems	PR	896.69±14.52 <sup>c,d</sup>	6777.05±29.12 <sup>i,j,k,l</sup>
		AC	1223.63±13.29 <sup>d,e,f</sup>	7127.77±28.95 <sup>j,k,l</sup>
		ET	1407.52±19.50 <sup>f,g</sup>	9192.06±27.57 <sup>m</sup>
		EWA	1019.18±23.51 <sup>c,d,e</sup>	5887.53±27.01 <sup>g,h,i,j</sup>
	lapas / leaves	EW	1329.46±13.79 <sup>e,f</sup>	7474.40±10.60 <sup>l</sup>
		PR	2529.09±22.20 <sup>h</sup>	588.04±22.47 <sup>a,b,c</sup>
		AC	762.28±25.76 <sup>c</sup>	220.14±19.82 <sup>a</sup>
		ET	6643.20±21.12 <sup>j</sup>	1219.99±23.44 <sup>a,b,c,d</sup>
		EWA	4818.89±24.29 <sup>i</sup>	1931.53±25.49 <sup>c,d,e</sup>
		EW	6740.67±27.89 <sup>j</sup>	1882.75±18.26 <sup>c,d,e</sup>
L2	sakne / root	HE	105.86±1.94 <sup>a,b</sup>	463.01±8.84 <sup>a,b</sup>
		DI	156.08±1.86 <sup>a,b</sup>	1541.64±10.72 <sup>b,c,d</sup>
		PR	379.13±2.53 <sup>b</sup>	1611.28±13.30 <sup>b,c,d</sup>
		AC	249.15±1.79 <sup>a,b</sup>	2080.46±6.06 <sup>d,e,f</sup>
		ET	266.46±2.75 <sup>a,b</sup>	2489.79±7.49 <sup>d,e,f</sup>
		EWA	322.46±3.37 <sup>a,b</sup>	2124.01±6.28 <sup>d,e,f</sup>
		EW	223.17±2.16 <sup>a,b</sup>	2464.68±6.23 <sup>d,e,f</sup>
	kāti / stems	ET	417.04±9.31 <sup>f,g</sup>	5025.50±9.73 <sup>g,h</sup>
		EWA	118.98±3.22 <sup>c,d,e</sup>	4624.11±8.86 <sup>g</sup>
		EW	129.02±2.93 <sup>e,f</sup>	5549.60±8.67 <sup>g,h,i</sup>
L3	sakne / root	ET	1372.52±10.91 <sup>e,f,g</sup>	5085.56±19.49 <sup>g,h</sup>
		EWA	817.83±3.44 <sup>f,g</sup>	4830.22±±17.96 <sup>g,h</sup>
		EW	611.17±2.57 <sup>g</sup>	5076.22±12.08 <sup>g,h</sup>
	kāti / stems	ET	394.86±4.64 <sup>f,g</sup>	7299.27±10.44 <sup>k,l</sup>
		EWA	207.03±2.72 <sup>c,d,e</sup>	5469.93±15.54 <sup>g,h</sup>
		EW	261.88±2.30 <sup>e,f</sup>	6030.86±14.02 <sup>h,i,j,k</sup>

## 11. pielikums / Appendix 11

### UAE ilguma ietekme uz fenolu savienojumu saturu un AA lupstāju ekstraktos / UAE time effect on the content of phenolic compounds and AA of lovage

Rādītājs / Parameter	Ekstrakcijas laiks / Extraction time, s	Augu materiāls / Plant material		
		Saknes / Root	Kāti / Stem	Lapas / Leaves
KFS / TPC	15	142.77±1.43	1828.02±18.63	549.36±5.74
	30	184.03±1.94	1640.79±15.11	589.62±5.63
	45	195.53±1.78	1685.81±13.09	1016.29±10.86
	60	305.72±2.92	2053.16±28.39	819.67±8.17
	90	183.71±1.74	1549.39±17.88	846.90±8.78
	150	166.60±1.56	1781.89±16.63	866.58±8.72
	210	175.23±1.77	1912.47±15.95	628.37±6.04
	300	186.58±1.98	1803.68±18.61	643.18±6.36
	900	191.53±1.90	1879.23±14.40	825.52±8.59
	1800	250.57±2.72	1876.71±13.69	935.28±9.63
KFIS / TFC	15	204.04±1.94	621.15±6.94	796.82±7.15
	30	277.68±2.81	701.49±7.73	976.90±9.22
	45	317.89±3.09	473.98±4.58	2628.68±19.84
	60	381.01±3.88	1726.62±11.57	1079.51±9.46
	90	292.43±2.89	598.43±5.87	1068.42±9.96
	150	248.20±2.62	864.12±8.92	1425.77±13.50
	210	231.56±2.71	1687.41±17.68	1112.39±10.95
	300	237.90±2.28	862.73±14.36	1631.73±15.04
	900	285.01±2.55	1013.73±15.38	2113.17±19.16
	1800	322.14±3.32	948.80±9.81	2416.12±20.06
DPPH	15	7.72±0.07	35.06±0.97	82.24±0.82
	30	9.04±0.11	32.73±0.33	77.48±0.77
	45	9.50±0.13	35.52±0.31	72.85±0.73
	60	14.38±0.14	37.19±1.05	62.96±0.63
	90	10.91±0.11	33.36±.061	54.86±0.55
	150	9.19±0.09	35.45±0.91	60.51±0.61
	210	8.04±0.08	37.78±0.59	58.63±0.59
	300	9.48±0.10	35.62±0.36	54.15±0.54
	900	10.42±0.12	36.09±0.93	58.53±0.60
	1800	12.50±0.16	32.56±1.46	63.87±0.64
ABTS <sup>++</sup>	15	4.38±0.05	8.96±0.38	16.54±0.48
	30	9.18±0.15	4.51±0.36	18.34±0.21
	45	9.09±0.41	7.42±0.41	30.72±0.43
	60	10.42±0.25	9.16±0.39	22.52±0.30
	90	7.61±0.18	4.35±0.30	23.22±0.23
	150	5.65±0.36	7.85±0.20	20.58±0.57
	210	4.06±0.41	9.29±0.14	24.18±0.24
	300	4.59±0.46	7.34±0.34	23.31±0.23
	900	6.21±0.07	6.23±0.39	25.41±0.31



11. pielikuma turpinājums / *Appendix 11 continued*

Rādītājs / <i>Parameter</i>	Ekstrakcijas laiks / <i>Extraction time, s</i>	Augu materiāls / <i>Plant material</i>		
		Saknes / <i>Root</i>	Kāti / <i>Stem</i>	Lapas / <i>Leaves</i>
	1800	8.80±0.19	6.49±0.38	32.84±0.33
RS / <i>RP</i>	15	789.99±7.56	1153.95±11.54	3024.39±30.36
	30	1026.71±10.14	1128.31±22.10	3090.73±30.53
	45	1245.54±17.61	1166.23±11.66	3185.80±31.38
	60	1705.22±17.33	1829.61±22.88	2278.99±11.50
	90	1247.33±12.81	1128.82±11.55	2676.34±26.41
	150	1054.29±13.46	933.96±10.18	2327.86±23.44
	210	1026.45±11.13	1349.72±22.41	2238.85±22.12
	300	1035.69±10.84	1127.02±14.47	2261.57±22.57
	900	1069.48±12.84	1246.58±28.79	2428.81±24.07
	1800	1426.98±19.39	1167.91±25.17	2746.90±27.94

## 12. pielikums / Appendix 12

### MAE ilguma ietekme uz fenolu savienojumu saturu un to AA lupstāju ekstraktos / MAE time effect on the content of phenolic compounds AA of lovage extracts

Parametri / Parameters	Ekstrakcijas laiks / Extraction time, s	Lupstāju ekstrakti / Lovage extracts		
		Sakņu / Roots	Kātu / Stems	Lapu / Leaves
KFS / TPC	15	362.28±0.81	185.00±1.64	488.92±4.08
	30	295.30±0.46	159.62±1.30	541.52±5.22
	45	245.58±0.28	153.81±1.53	599.24±5.96
	60	212.26±0.59	143.17±1.46	519.67±5.62
	90	193.91±1.51	131.58±1.52	518.47±9.87
KFIS / TFC	15	458.15±2.36	637.14±6.11	580.97±5.02
	30	424.90±1.93	619.70±6.78	616.88±6.14
	45	369.58±1.64	517.48±5.87	627.85±6.85
	60	332.51±1.08	415.41±4.35	608.00±5.78
	90	326.04±1.95	348.20±3.93	590.68±5.80
RS / RP	15	2052.75±21.53	1364.27±13.64	2587.15±23.92
	30	1628.56±16.92	1368.02±18.37	2259.95±22.24
	45	1469.59±13.72	1595.33±15.87	2240.51±22.35
	60	1371.26±14.39	1744.46±17.33	2056.62±20.29
	90	1333.72±15.48	1590.88±16.43	2030.71±22.41
DPPH <sup>·</sup>	15	17.44±0.27	8.73±0.09	6.17±0.07
	30	12.10±0.23	10.43±0.10	6.40±0.10
	45	6.80±0.16	10.92±0.11	7.30±0.07
	60	6.34±0.17	10.48±0.09	7.54±0.08
	90	6.20±0.17	7.81±0.09	7.74±0.09
ABTS <sup>·+</sup>	15	15.73±0.21	0.61±0.02	33.66±0.35
	30	15.52±0.20	0.97±0.04	25.68±0.45
	45	15.40±0.21	1.47±0.03	25.34±0.23
	60	10.68±0.18	1.21±0.06	27.49±0.27
	90	8.43±0.15	0.37±0.03	26.92±0.41

13. pielikums / Appendix 13

Korelācijas matrica starp AA, KFS un KFIS lupstāju UAE un MAE ekstraktos /  
Correlation matrix among the total antioxidant capacity, TPC and TFC for lovage  
UAE and MAE extract

Ekstrakta veids / Type of extract	Ekstrakcijas veids / Type of extraction	Parametri / Parameters	KFS / TPC	KFIS / TFC	DPPH <sup>·</sup>	ABTS <sup>·+</sup>
Lupstāju sakņu ekstraktos / Lovage roots extract	MAE	KFS / TPC	<b>1</b>	×	×	×
		KFIS / TFC	0.99**	<b>1</b>	×	×
		DPPH <sup>·</sup>	0.97**	0.95**	<b>1</b>	×
		ABTS <sup>·+</sup>	0.74**	0.74**	0.58**	<b>1</b>
		RS / RP	0.98*	0.93**	0.98**	0.63**
	UAE	KFS / TPC	<b>1</b>	×	×	×
		KFIS / TFC	0.90**	<b>1</b>	×	×
		DPPH <sup>·</sup>	0.93**	0.90**	<b>1</b>	×
		ABTS <sup>·+</sup>	0.74**	0.87**	0.70**	<b>1</b>
		RS / RP	0.95**	0.94**	0.94**	0.76**
Lupstāju kātu ekstraktos / Lovage stems extract	MAE	KFS / TPC	<b>1</b>	×	×	×
		KFIS / TFC	0.91**	<b>1</b>	×	×
		DPPH <sup>·</sup>	0.07	0.30	<b>1</b>	×
		ABTS <sup>·+</sup>	-0.01	0.14	0.95**	<b>1</b>
		RS / RP	-0.74**	-0.83**	0.19	0.37
	UAE	KFS / TPC	<b>1</b>	×	×	×
		KFIS / TFC	0.81**	<b>1</b>	×	×
		DPPH <sup>·</sup>	0.61**	0.63**	<b>1</b>	×
		ABTS <sup>·+</sup>	0.75**	0.56**	0.77**	<b>1</b>
		RS / RP	0.69**	0.76**	0.51**	0.44*
Lupstāju lapu ekstraktos / Lovage leaves extract	MAE	KFS / TPC	<b>1</b>	×	×	×
		KFIS / TFC	0.90**	<b>1</b>	×	×
		DPPH <sup>·</sup>	0.29	0.21	<b>1</b>	×
		ABTS <sup>·+</sup>	-0.75**	-0.80**	-0.54*	<b>1</b>
		RS / RP	-0.26	-0.33**	-0.88**	0.74**
	UAE	KFS / TPC	<b>1</b>	×	×	×
		KFIS / TFC	0.75**	<b>1</b>	×	×
		DPPH <sup>·</sup>	-0.27	-0.14	<b>1</b>	×
		ABTS <sup>·+</sup>	0.76**	0.88**	-0.31	<b>1</b>
		RS / RP	0.07	0.16	0.81**	0.04

\*Nozīmīgums/Significant at p<0.05, \*\*nozīmīgums/Significant at p<0.01