



Kauno technologijos universitetas

Cheminės technologijos fakultetas

**Pluoštinių kanapių (*Cannabis sativa* L.) lapų frakcionavimas į
bioaktyviųjų junginių ekstraktus taikant tradicinius ir didelio
slėgio metodus**

Baigiamasis magistro projektas

Orinta Aleknavičiūtė

Projekto autorė

Prof., dr. Petras Rimantas Venskutonis

Vadovas

Kaunas, 2019



Kauno technologijos universitetas

Cheminės technologijos fakultetas

**Pluoštinių kanapių (*Cannabis sativa* L.) lapų frakcionavimas į
bioaktyviųjų junginių ekstraktus taikant tradicinius ir didelio
slėgio metodus**

Baigiamasis magistro projektas

Maisto mokslas ir sauga (6211FX011)

Orinta Aleknavičiūtė

Projekto autorė

**Prof., dr. Petras Rimantas
Venskutonis**

Vadovas

Lekt., dr. Paulius Kraujalis

Recenzentas

Kaunas, 2019



Kauno technologijos universitetas

Cheminės technologijos fakultetas

Orinta Aleknavičiūtė

Pluoštinių kanapių (*Cannabis sativa* L.) lapų frakcionavimas į bioaktyviųjų junginių ekstraktus taikant tradicinius ir didelio slėgio metodus

Akademinio sąžiningumo deklaracija

Patvirtinu, kad mano, Orintos Aleknavičiūtės, baigiamasis projektas tema „Pluoštinių kanapių (*Cannabis sativa* L.) lapų frakcionavimas į bioaktyviųjų junginių ekstraktus taikant tradicinius ir didelio slėgio metodus“ yra parašytas visiškai savarankiškai ir visi pateikti duomenys ar tyrimų rezultatai yra teisingi ir gauti sąžiningai. Šiame darbe nei viena dalis nėra plagijuota nuo jokių spausdintinių ar internetinių šaltinių, visos kitų šaltinių tiesioginės ir netiesioginės citatos nurodytos literatūros nuorodose. Įstatymų nenumatytų piniginių sumų už šį darbą niekam nesu mokėjęs.

Aš suprantu, kad išaiškėjus nesąžiningumo faktui, man bus taikomos nuobaudos, remiantis Kauno technologijos universitete galiojančia tvarka.

(vardą ir pavardę įrašyti ranka)

(parašas)

Aleknavičiūtė Orinta. Pluoštinių kanapių (*Cannabis sativa* L.) lapų frakcionavimas į bioaktyviųjų junginių ekstraktus taikant tradicinius ir didelio slėgio metodus. Magistro baigiamasis projektas / vadovas / prof., dr. Petras Rimantas Venskutonis; Kauno technologijos universitetas, Cheminės technologijos fakultetas.

Studijų kryptis ir sritis (studijų krypčių grupė): Technologijų mokslai, Maisto technologijos

Reikšminiai žodžiai: *Cannabis sativa* L.; hidrodistiliacija; superkryzinė skysčių ekstrakcija; eterinių aliejų sudėtis; fitokanabinoidų sudėtis; antioksidacinis aktyvumas

Kaunas, 2019. 110 p.

Santrauka

Tradiciskai pluoštinės kanapės yra auginamos tekstilės, aliejaus bei maisto produktų gamybos tikslais, tam panaudojant jų pluoštą ar sėklas. Pastaruoju metu susidomėjimas kanapėmis išaugo dėl specifinių fitocheminių medžiagų jų lapuose. Pagrindiniai bioaktyvieji kanapių lapų komponentai yra eterinis aliejus (EO) ir neturintys psichoaktyvaus poveikio fitokanabinoidai. Dėl teigiamo poveikio sveikatai šie komponentai pritraukia vis didesnę mokslininkų ir medikų susidomėjimą. Šio tyrimo tikslas yra sukurti ir įvertinti pluoštinių kanapių veikliųjų medžiagų frakcionavimo technologijas taikant tradicinius ir didelio slėgio metodus bei įvertinti skirtingų ekstrakcijos metodų įtaką įvairių savybių junginių sudėčiai.

Naudingi pluoštinių kanapių lapų komponentai išskirti naudojant *Clevenger* hidrodistiliaciją (HD) ir superkryzinę skysčių ekstrakciją anglies dvideginiu (SFE-CO₂). Kanapių ekstrakto frakcionavimo galimybės po SFE-CO₂ buvo išbandytos naudojant du separatorius ir pritaikius skirtingus slėgio ir temperatūros režimus, dėl to kad būtų galima atskirti vaškus ir kitus (daugiausia lakiuosius) junginius. Grynas CO₂ ir jo mišinys su etanolio tirpikliu (5 % EtOH) buvo analizuojami pritaikius tas pačias frakcionavimo sąlygas. Antroje šio tyrimo dalyje kanapių žaliava, ekstraktas bei liekana po HD ir SFE-CO₂ buvo naudojama jų antioksidaciniam potencialui įvertinti įvairiose *in vitro* modelinėse sistemose (TPC, ABTS⁺⁺ ir ORAC). Dėl tos priežasties, kad būtų galima iširti galimybę naudoti augalų ekstraktus ir jų ekstrakcijos liekanas kaip įvairių funkcinių ingredientų šaltinį.

EO kiekis po HD varijavo nuo 0,07 iki 0,15 % priklausomai nuo veislės, o priklausomai nuo vegetacijos periodo – nuo 0,01 iki 0,24 %. Svarbiausi EO komponentai nustatyti GC-FID ir GC-TOF/MS metodais buvo α -pinenas, mircenas, E-kariofilenas, α -humulenas, kariofileno oksidas ir CBD. HD metu gauto vandeninio ekstrakto antioksidacinis aktyvumas apskaičiuotas sausai žaliavai buvo beveik lygus nustatytam pradinėje žaliavoje, o tai parodo labai didelę ekstrakcijos efektyvumą. Didžiausias fitokanabinoidų Δ^9 -THC ir Δ^9 -THCA kiekis identifikuotas HPLC-UV/Vis metodu pradinėje žaliavoje buvo nustatytas 'Grandi' (0,23 ir 0,22 %), o CBD ir CBDA – 'Sidrabi' (0,94 ir 0,97 %) veislių pluoštinių kanapių lapuose. Po SFE-CO₂ frakcionavimo be organinio tirpiklio (0 % EtOH) ir su 5 % etanolio (5 % EtOH) priklausomai nuo skirtingos šaldymo temperatūros (-30–0 °C) nustatyta, kad efektyviausia ekstrakcija gauta naudojant 5 % EtOH -10 °C temperatūroje. Naudojant šias sąlygas gauta didžiausia lakiosios frakcijos (3,15 %) ir mažiausia vaškų frakcijos (1,38 %) išeiga. Didžiausi fitokanabinoidų CBD ir CBDA kiekiai, lakiojoje frakcijoje po SFE-CO₂ identifikuoti HPLC-UV/Vis metodu, nustatyti naudojant 5 % EtOH -10 °C temperatūroje, atitinkamai 0,29 ir 0,53 g/100 g S.M. Be to, lyginant ekstraktų po SFE-CO₂ ORAC vertes apskaičiuotas sausai žaliavai su organiniu tirpikliu (5 % EtOH) ir be tirpiklio (0 % EtOH) -10 °C, deguonies radikalų absorbcijos pajėgumas atitinkamai sudarė 27,50 ir 3,06 mg TE/g S.M.

Aleknavičiūtė Orinta. Fractionation of Industrial Hemp (*Cannabis sativa* L.) Leaves into the Extracts of Bioactive Compounds by Using Traditional and High Pressure Processes. Master's Final Degree Project / supervisor prof., dr. Petras Rimantas Venskutonis; Faculty of Chemical Technology, Kaunas University of Technology.

Study field and area (study field group): Technological Sciences, Food Technologies

Keywords: *Cannabis sativa* L.; hydrodistillation; supercritical fluid extraction; essential oil composition; phytocannabinoids composition; antioxidant capacity

Kaunas, 2019. 110.

Summary

Industrial hemp traditionally is grown for the production of textile fiber, pressing oil from the seeds and in foods. More recently, interest in cannabis has increased due to the specific phytochemicals in their leaves. The main bioactive compounds which are found in hemp leaves are essential oil (EO) and non-psychoactive phytocannabinoids. They attracted an increasing interest of researchers and medics due to their health benefits. The aim of this study is to develop and evaluate the technologies of fractionation of industrial hemp bioactive compounds using traditional and high pressure methods and to determine the influence of different extraction methods on the composition of various properties compounds.

The target compounds were isolated using *Clevenger* hydrodistillation (HD) and supercritical CO₂ extraction (SFE-CO₂). The possibilities of fractionating hemp extracts after SFE-CO₂ were tested by using two separators operating at different pressure and temperature in order to separate waxes from other (mostly volatile) compounds. Pure CO₂ and its mixture with a co-solvent ethanol (5 % EtOH) were tested at the same separation parameters. In the second part of this study hemp material, extracts and residues after HD and SFE-CO₂ were used for evaluating their antioxidant activities in different *in vitro* assays (TPC, ABTS^{•+} and ORAC). For the reason to investigate the possibility of using plant extracts and extraction residues as a source of various functional ingredients.

The yield of EOs after HD varied from 0.07 to 0.15 % depending on the cultivar, while depending on the vegetation period – from 0.01 to 0.24 %. The predominant EOs components determined by GC-FID and GC-TOF/MS were α -pinene, myrcene, E-caryophyllene, α -humulene, caryophyllene oxide and CBD. After HD the antioxidant activity of water extract recoveries were almost equal to that found in the plant material, that indicates a very high extraction efficiency. The maximum amount of phytocannabinoids Δ^9 -THC and Δ^9 -THCA determined by HPLC-UV/Vis in raw material were investigated in 'Grandi' (0.23 and 0.22 %), while CBD and CBDA – in 'Sidrabi' (0.94 and 0.97 %) hemp cultivar leaves. After SFE-CO₂ fractionation without organic solvent (0 % EtOH) and with 5 % ethanol (5 % EtOH) depending on different cooling temperature (-30–0 °C), it was observed that the most efficient extraction was obtained using 5 % EtOH at -10 °C. As a result, using these parameters the highest yield of volatile (3.15 %) and the lowest yield of wax fraction (1.38 %) was obtained. The highest recoveries of the main cannabinoids, namely CBD and CBDA, determined in volatile fraction by HPLC-UV/Vis after SFE-CO₂ were obtained at -10 °C with 5% EtOH, 0.29 and 0.53 g/100 g DW, respectively. Besides, the recovery of ORAC values was remarkably higher at -10 °C when 5 % EtOH was applied, 27.50 vs 3.06 mg TE/g DW, respectively.

Turinys

Lentelių sąrašas	8
Paveikslų sąrašas	9
Santrumpų sąrašas	10
Įvadas.....	11
1. Literatūros apžvalga	13
1.1 <i>Cannabis sativa</i> L. botaninė charakteristika	13
1.2 <i>Cannabis sativa</i> L. veislių selekcija.....	15
1.3 <i>Cannabis sativa</i> L. cheminė sudėtis ir junginių biosintezė.....	16
1.3.1 Eteriniai aliejai (EO) ir jų cheminė sudėtis	18
1.3.2 Fitokanabinoidai ir jų cheminė sudėtis.....	19
1.3.3 Fenoliniai junginiai ir jų cheminė sudėtis	21
1.4 <i>Cannabis sativa</i> L. farmakologinis poveikis.....	22
1.4.1 Eterinių aliejų (EO) farmakologinis poveikis	23
1.4.2 Fitokanabinoidų farmakologinis poveikis.....	27
1.4.3 Fenolinių junginių farmakologinis poveikis	29
1.5 Bioaktyviųjų junginių ekstrakcijos metodai.....	30
1.5.1 Hidrodistiliacija (HD)	30
1.5.2 Soksleto (SOK) ekstrakcija	31
1.5.3 Superkrizinė skysčių ekstrakcija anglies dvideginiu (SFE-CO ₂).....	32
1.6 Bioaktyviųjų junginių analizės metodai.....	34
1.7 <i>Cannabis sativa</i> L. panaudojimas pramonėje	35
2. Tyrimo objektai ir metodai	36
2.1 Tyrimo objektai	36
2.2 Mėginių paruošimas	37
2.3 Drėgmės ir sausųjų medžiagų kiekio nustatymas	38
2.4 Ekstrakcijų ir analizės metodai	38
2.4.1 Ekstrakcijų metodai ir bandinių paruošimas analizei.....	39
2.4.1.1 Tradicinė hidrodistiliacijos (HD) ekstrakcija.....	39
2.4.1.2 Tradicinė Soksleto (SOK) ekstrakcija.....	39
2.4.1.3 Didelio slėgio superkrizinių skysčių ekstrakcija anglies dvideginiu (SFE-CO ₂).....	39
2.4.1.4 Kanabinoidų ekstrakcija.....	40
2.4.2 Analizės metodai	40
2.4.2.1 Dujų chromatografija su liepsnos jonizacijos detektoriumi (GC-FID).....	40
2.4.2.2 Dujų chromatografija ir masių spektrometrija su laiko skriejimo masių analizatoriumi (GC-TOF/MS).....	40

2.4.2.3 Efektyvioji skysčių chromatografija su ultravioletinių ir matomos srities spindulių sugerties detektoriumi (HPLC-UV/Vis).....	41
2.5 Antioksidacinių savybių įvertinimas.....	42
2.5.1 Ekstraktų antioksidacinių savybių įvertinimas.....	42
2.5.1.1 Bendras fenolinių junginių kiekis (TPC)	42
2.5.1.2 ABTS ⁺ laisvųjų radikalų sujungimo metodas	42
2.5.1.3 Deguonies radikalų absorbcijos pajėgumo nustatymas (ORAC).....	43
2.5.2 Žaliavos ir kietosios liekanos antioksidacinių savybių įvertinimas (QUENCHER procedūra) 43	
2.6 Rezultatų analizė	44
3. Tyrimų rezultatai ir jų aptarimas.....	45
3.1 Žaliavos kokybinis įvertinimas	45
3.2 Eterinių aliejų (EO), išskirtų tradiciniu hidrodistiliacijos (HD) metodu, kiekybinė ir kokybinė analizė.....	46
3.3 Ekstrakcijos liekanų išėiga gauta po hidrodistiliacijos (HD).....	52
3.4 Pradinės žaliavos ir ekstrakcijos liekanų po hidrodistiliacijos (HD) antioksidacinis potencialas 53	
3.5 Fitokanabinoidų ir jų rūgščių kiekybinė ir kokybinė analizė	60
3.6 Ekstraktų, išfrakcionuotų superkriziniu anglies dvideginiu (SFE-CO ₂), kiekybinė ir kokybinė analizė.....	62
3.7 Ekstraktų išėigų palyginimas naudojant tradicinę Soksleto (SOK) ir inovatyvią superkrizinę skysčių ekstrakciją anglies dvideginiu (SFE-CO ₂)	68
3.8 Pradinės žaliavos, ekstraktų ir ekstrakcijos liekanų antioksidacinis potencialas po tradicinės Soksleto (SOK) ir inovatyvios superkrizinės skysčių ekstrakcijos anglies dvideginiu (SFE-CO ₂)... 69	
Išvados	72
Literatūros sąrašas	74
Priedai	93
1 priedas. 2015 m. ES registruotos pluoštinių kanapių (<i>Cannabis sativa</i> L.) veislės	93
2 priedas. 2018 m. Kanadoje registruotos pluoštinių kanapių (<i>Cannabis sativa</i> L.) veislės	95
3 priedas. Skirtingų kanapių veislių detali lakiųjų aromato komponentų cheminė sudėtis, %	97
4 priedas. 'Finola' skirtingo vegetacijos periodo detali lakiųjų aromato komponentų cheminė sudėtis, %	101
5 priedas. Skirtingų kanapių veislių dominuojančių monoterpenų ir seskviterpenų kiekis, mg/kg S.M	105
6 priedas. 'Finola' skirtingo vegetacijos periodo dominuojančių monoterpenų ir seskviterpenų kiekis, mg/kg*	106
7 priedas. 'Finola' ekstraktų, išfrakcionuotų superkriziniu anglies dvideginiu (SFE-CO ₂), detali komponentų cheminė sudėtis, %.....	107
8 priedas. 'Finola' ekstraktų, išfrakcionuotų superkriziniu anglies dvideginiu (SFE-CO ₂), dominuojančių komponentų kiekis, mg/kg S.M	110

Lentelių sąrašas

1 lentelė. <i>Cannabis sativa</i> L. cheminė sudėtis	16
2 lentelė. Kanapių chemotipai pagal vyraujančią kanabinoidą	21
3 lentelė. Skirtingų kanapių veislių drėgmės ir sausųjų medžiagų kiekis, %.....	45
4 lentelė. 'Finola' skirtingo vegetacijos periodo drėgmės ir sausųjų medžiagų kiekis, %	45
5 lentelė. Skirtingų kanapių veislių pagrindinių lakiųjų aromato komponentų cheminė sudėtis, % .	49
6 lentelė. 'Finola' skirtingo vegetacijos periodo pagrindinių lakiųjų aromato komponentų cheminė sudėtis, %	51
7 lentelė. Skirtingų veislių hidrodistiliacijos (HD) produktų išeiga, g/100 g S.M.....	52
8 lentelė. 'Finola' skirtingo vegetacijos periodo hidrodistiliacijos (HD) produktų išeiga, g/100 g* .	53
9 lentelė. Skirtingų veislių bendras fenolinių junginių kiekis (TPC) prieš ir po hidrodistiliacijos (HD)	54
10 lentelė. Skirtingų veislių ABTS ^{•+} laisvųjų radikalų sujungimo geba prieš ir po hidrodistiliacijos (HD)	55
11 lentelė. Skirtingų veislių deguonies radikalų absorbcijos pajėgumo nustatymas (ORAC) prieš ir po hidrodistiliacijos (HD).....	55
12 lentelė. 'Finola' skirtingo vegetacijos periodo bendras fenolinių junginių kiekis (TPC) prieš ir po hidrodistiliacijos (HD).....	57
13 lentelė. 'Finola' skirtingo vegetacijos periodo ABTS ^{•+} laisvųjų radikalų sujungimo geba prieš ir po hidrodistiliacijos (HD).....	57
14 lentelė. 'Finola' skirtingo vegetacijos periodo deguonies radikalų absorbcijos pajėgumo nustatymas (ORAC) prieš ir po hidrodistiliacijos (HD).....	58
15 lentelė. 'Finola' ekstraktų, išfrakcionuotų superkritiniu anglies dvideginiu (SFE-CO ₂), pagrindinių komponentų cheminė sudėtis, %	64
16 lentelė. 'Finola' antioksidacinis aktyvumas prieš ir po tradicinės Soksleto (SOK) bei inovatyvios superkritinės skysčių ekstrakcijos anglies dvideginiu (SFE-CO ₂), mg/g S.M	69
17 lentelė. 'Finola' ekstraktų deguonies radikalų absorbcijos pajėgumo nustatymas (ORAC) po tradicinės Soksleto (SOK) bei inovatyvios superkritinės skysčių ekstrakcijos anglies dvideginiu (SFE-CO ₂), mg TE/g ekstrakto ir mg TE/g S.M.....	70

Paveikslų sąrašas

1 pav. <i>Cannabis sativa</i> L. rūšys: <i>C. sativa</i> , <i>C. indica</i> ir <i>C. ruderalis</i>	13
2 pav. <i>Cannabis sativa</i> L. augalai: dvinamiai ir vienamiai	14
3 pav. <i>Cannabis sativa</i> L. cheminių junginių biosintezė	17
4 pav. Izopreno molekulė	18
5 pav. Pagrindinės terpenų cheminės struktūros	19
6 pav. Pagrindinės fitokanabinoidų cheminės struktūros	20
7 pav. <i>Clevenger</i> hidrodistiliacijos aparatas	30
8 pav. Soksleto (SOK) aparatas	31
9 pav. Superkryzinės skysčių ekstrakcijos (SFE) proceso schema	32
10 pav. Medžiagos fazinė diagrama	33
11 pav. Pluoštinės kanapės (<i>Cannabis sativa</i> L.) žydėjimo metu	36
12 pav. Mėginių paruošimo schema	37
13 pav. Mėginių ekstrakcijų ir analizės metodų schema	38
14 pav. Kanabidiolio (CBD) ir tetrahidrokanabinolio (THC) kalibracinės kreivės	42
15 pav. Skirtingų kanapių veislių eterinio aliejaus (EO) kiekis, ml/100 g S.M.	46
16 pav. 'Finola' skirtingo vegetacijos periodo eterinio aliejaus (EO) kiekis, ml/100 g*	47
17 pav. Skirtingų veislių delta-9-tetrahidrokanabinolio (Δ^9 -THC) ir delta-9-tetrahidrokanabinolio rūgšties (Δ^9 -THCA) kiekis, %	60
18 pav. Skirtingų veislių kanabidiolio (CBD) ir kanabidiolio rūgšties (CBDA) kiekis, %	61
19 pav. Skirtingų kanapių veislių chemotipo indeksas (Δ^9 -THC/CBD)	62
20 pav. 'Finola' ekstraktų, išfrakcionuotų superkryziniu anglies dvideginiu (SFE-CO ₂), išeigos %	63
21 pav. 'Finola' ekstraktų, išfrakcionuotų superkryziniu anglies dvideginiu (SFE-CO ₂), fitokanabinoidų cheminė sudėtis, %	66
22 pav. 'Finola' ekstraktų, išfrakcionuotų superkryziniu anglies dvideginiu (SFE-CO ₂), fitokanabinoidų cheminė sudėtis, g/100 g S.M.	67

Santrumpų sąrašas

- ABTS⁺ – 2,2'-azino-bis-3-etilbenziazolin-6-sulfono rūgštis;
- CBD – kanabidiolis;
- CBDA – kanabidiolio rūgštis;
- CBCA – kanabichromeno rūgštis;
- CBGA – ganabigerolio rūgštis;
- EO – eterinis aliejus;
- GC – dujų chromatografija;
- GC-FID – dujų chromatografija su liepsnos jonizacijos detektoriumi;
- GC-TOF/MS – dujų chromatografija ir masių spektrometrija su laiko skriejimo masių analizatoriumi;
- GAE – galo rūgšties ekvivalentai;
- HD – hidrodistiliacija;
- HPLC – efektyvioji skysčių chromatografija;
- HPLC-UV/Vis – efektyvioji skysčių chromatografija su ultravioletinių ir matomos srities spindulių sugerties detektoriumi;
- KI – *Kováts* sulaikymo indeksas;
- ORAC – deguonies radikalų absorbcijos geba;
- RNS – reaktyvios azoto rūšys;
- ROS – reaktyvios deguonies rūšys;
- SFE – superkrizinė skysčių ekstrakcija;
- SFE-CO₂ – superkrizinė skysčių ekstrakcija anglies dvideginiu;
- SOK – Soksletas;
- TE – Trolokso ekvivalentai;
- THC – tetrahidrokanabinolis;
- THCA – tetrahidrokanabinolio rūgštis;
- TPC – bendrasis fenolinių junginių kiekis;
- QUENCHER – antioksidacinio aktyvumo nustatymo sausoje medžiagoje metodika.

Ivadas

Pluoštinė kanapė (lot. *Cannabis sativa* L.) – tai vienmetis žolinis augalas, priklausantis kanapinių (*Cannabaceae*) šeimai. Pluoštinės kanapės kilmės vieta – Centrinė Azija, o jos naudojimas visame pasaulyje paplito jau prieš tūkstančius metų kaip maisto ir energijos šaltinis bei žaliava medicininių preparatų gamybai ar pluoštui [1].

Pastaruoju metu susidomėjimas kanapėmis išaugo dėl specifinių fitocheminių medžiagų jų lapuose. Kanapėse randama daugiau kaip 100 biologiškai aktyvių antrinių metabolitų: terpenų, fenolių, fitokanabinoidų. Daugelis atliktų tyrimų parodė, kad kanapių antriniai metabolitai turi įtakos žmogaus sveikatai ir yra naudojami kaip vaistiniai preparatai. Tarp jų yra Δ^9 -tetrahidrokanabinolis (Δ^9 -THC), kuris yra žinomas kaip natūralus psichotropinis junginys. Dėl to, tik patvirtintos *C. sativa* veislės su mažesniu kaip 0,2–0,3 % Δ^9 -THC kiekiu oficialiai leidžiamos auginti daugelyje Europos šalių, JAV ir Kanadoje. Kita vertus, neturintys psichotropinio poveikio fitokanabinoidai, tarp jų kanabidiolis (CBD) ir jo pirmtakas kanabidiolio rūgštis (CBDA), pasižymi naudingu medicininis ir terapiniu poveikiu: skausmą malšinančiu, antibakteriniu, priešdiabetiniu, priešvėžiniu, priešepilepsiniu, priešušdegiminiu, antiproliferaciniu, antipsichoziniu, antispazminiu. Dėl šios priežasties, fitokanabinoidai laikomi perspektyviais natūraliais junginiais gydant epilepsiją, depresiją, anoreksiją, vėžį ir kt. ligas [2, 3].

Kanapės sukaupia nemažai lakiųjų junginių – eterinio aliejaus (EO). Didelę pluoštinių kanapių EO dalį sudaro terpenai, kurių kanapėse randama daugiau kaip 120 junginių, tarp jų 58 monoterpentai bei 38 seskviterpenai [4]. EO – tai lakiosios daugiakomponentės medžiagos, kurios tradiciškai išskiriamos iš aromatinių augalų naudojant įvairius distiliacijos metodus. Vis dėlto, pastaruoju metu vis plačiau yra taikomi šiuolaikiški ekstrakcijos virškriziniu (superkriziniu) anglies dvideginiu (SFE-CO₂) metodai. SFE turi daug pranašumų lyginant su tradiciniais metodais, vienas svarbiausių yra termolabilių junginių išsaugojimas [5]. Nepaisant to, SFE proceso metu drauge su bioaktyviaisiais junginiais išekstrahuojami nepageidaujami didesnės molekulinės masės, nelakūs junginiai: riebalai, vaškai, pigmentai, rezinoidai, kurie dar yra vadinami dervų ekstraktu. Frakcionavimas gali padidinti SFE proceso junginių selektyvumą, o naudojant kelis separatorius galima atskirti lakiąją ir vaškų frakcijas. Kiek žinoma, iki šiol atlikta labai mažai tyrimų, kuriais siekiama atskirti kanapių lapuose esančių medžiagų frakcijas [6]. Bioaktyvieji junginiai kaupiami augaluose nedideliais kiekiais. Dėl šios priežasties, ekstrakcijos metodas bei jo parametrai yra vieni iš svarbiausių veiksnių, nulemiantys jų išgavą bei kokybę; todėl svarbu parinkti tinkamą ekstrakcijos metodą atsižvelgiant į numatomą veikliųjų komponentų panaudojimo paskirtį. Taip pat reikia paminėti, kad netgi tos pačios augalo rūšies antrinių metabolitų sudėtis priklauso nuo kelių veiksnių ir gali būti labai skirtinga, priklausomai nuo augalo auginimo aplinkos sąlygų, vegetacijos periodo ir veislės [7].

Kanapėse esantys fenoliniai junginiai gali veikti kaip antioksidantai tam tikromis fiziologinėmis sąlygomis ir taip apsaugoti ląsteles nuo laisvųjų radikalų sukeliama jų pažeidimo. Fenoliniai junginiai slopina reaktyviųjų deguonies (ROS) ir reaktyviųjų azoto rūšių (RNS) susidarymą. Įskaitant bendras terpenų ir kanabinoidų bioaktyviasias savybes, kanapėse randami flavonai ir flavonoliai pasižymi priešušdegiminiu, priešvėžiniu poveikiu bei stabdo neurodegeneracinių ligų: Alzheimerio, Parkinsono ir kt., atsiradimo riziką [8, 9].

Maisto pramonėje nuolatos ieškoma kaip efektyviai išskirti bioaktyvius junginius iš žaliavų bei panaudoti jų išskyrimo šalutinius produktus sukuriant aukštos kokybės funkcinio maisto gaminius ar maisto papildus, kurie pasižymėtų geromis organoleptinėmis savybėmis ir maistine verte. Be to, nuolatos yra siekiama mažinti perdirbimo metu susidariusių atliekų kiekį. Šiomis dienomis „natūralumas“ tapo vienu iš svarbiausių veiksnių, nulemiančių vartotojų pasirinkimą. Dėl šios priežasties pagrįstai galima teigti, kad natūralių augalinės kilmės bioaktyviųjų junginių paklausa ateityje tik didės.

Tyrimo tikslas – sukurti ir įvertinti pluoštinių kanapių veikliųjų medžiagų frakcionavimo technologijas taikant tradicinius ir didelio slėgio metodus bei įvertinti skirtingų ekstrakcijos metodų įtaką įvairių savybių junginių sudėčiai.

Darbo uždaviniai:

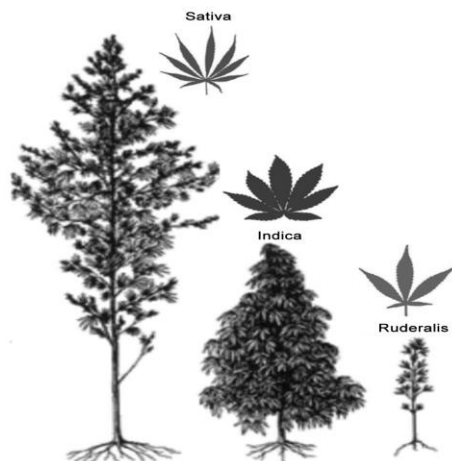
1. atlikti pluoštinių kanapių lapų skirtingų veislių ir vegetacijos periodų eterinių aliejų (EO), išskirtų tradiciniu hidrodistiliacijos (HD) metodu, kiekybinę ir kokybinę analizę dujų chromatografijos metodu su liepsnos jonizacijos detektoriumi (GC-FID) ir masių spektrometrijos su laiko skriejimo masių analizatoriumi (GC-TOF/MS);
2. įvertinti žaliavos ir HD ekstrakcijos liekanų antioksidacinį potencialą įvairiais *in vitro* metodais (bendrasis fenolinių junginių kiekis (TPC) *Folin-Ciocalteu* metodu, antioksidacinis aktyvumas ABTS⁺⁺ laisvųjų radikalų sujungimo metodu ir deguonies radikalų absorbcijos pajėgumas (ORAC) metodu);
3. iširti pluoštinių kanapių lapų skirtingų veislių fitokanabinoidų (CBD, Δ^9 -THC) ir jų rūgščių (CBDA, Δ^9 -THCA) sudėtį pradinėje žaliavoje efektyviosios skysčių chromatografijos metodu su ultravioletinių ir matomos srities spindulių sugerties detektoriumi (HPLC-UV/Vis);
4. įvykdyti pluoštinių kanapių lapų frakcionavimą be organinio tirpiklio (0 % EtOH) ir su 5 % etanolio (5 % EtOH) naudojant superkrizinę skysčių ekstrakciją anglies dvideginiu (SFE-CO₂) ir nustatyti šaldymo įtaką (-30–0 °C) lakiųjų komponentų bei vašku frakcijoms;
5. atlikti ekstraktų po SFE-CO₂ fitokanabinoidų bei lakiųjų komponentų kiekybinę ir kokybinę analizę HPLC-UV/Vis bei GC-FID ir GC-TOF/MS metodais;
6. palyginti gautas ekstraktų išėigas naudojant tradicinę Soksleto (SOK) ir inovatyvią SFE-CO₂ ekstrakciją;
7. įvertinti SOK ir SFE-CO₂ ekstraktų deguonies radikalų absorbcijos pajėgumą ORAC metodu bei šių ekstrakcijų liekanų antioksidacinį potencialą įvairiais *in vitro* metodais (TPC, ABTS⁺⁺, ORAC).

1. Literatūros apžvalga

1.1 *Cannabis sativa* L. botaninė charakteristika

Kanapinių (lot. *Cannabaceae*) šeimai yra priskiriamos tik dvi gentys: kanapė (*Cannabis*) ir apynys (*Humulus*). Remiantis mokslininkų nuomone, *Humulus* genčiai yra priskiriama tik viena *lupulus*, rūšis, o *Cannabis* genčiai gali būti priskiriama viena ar kelios rūšys [10]. C. Linnaeus'as išskyrė tik vieną – *sativa* rūšį [11]. J. M McPartland'as ir kt. apibūdino keturias skirtingas rūšis: *sativa*, *indica*, *ruderalis* ir *afghanica* [12]. K. W Hillig'as taksonomiškai suklasifikavo septynias galimas sėjamosios kanapės rūšis: *ruderalis*, *sativa ssp. sativa*, *sativa ssp. spontanea*, *indica ssp. kafiristanica*, *indica ssp. indica*, *indica ssp. afghanica* ir *indica ssp. chinensis* [13]. Iki šiol mokslininkai vis dar nesutaria kaip teisingai klasifikuoti kanapių rūšis, porūšius ir veisles. Sistemiškai klasifikuojant nesutariama ar kanapė yra monotipinė (vienos rūšies) ar politipinė (kelių rūšių) [14]. Nepaisant to, šiuo metu vyrauja nuomonė, kad kanapės sudaro labai kintamas, hibridizuotas ir introgresines rūšis. Dėl šios priežasties literatūroje visų rūšių kanapės yra įvardijamos kaip *Cannabis sativa* L. su veislės pavadinimu, apibūdinančiu augalo savybes [10].

C. sativa kilusi iš pusiaujo regiono (Kolumbijos, Meksikos, Pietryčių Azijos). Ši rūšis istoriškai buvo išveista ir auginama dėl pluošto ir sėklų. Augalai užauga greičiau ir yra aukštesni nei kitų rūšių. Lapai siauri, šviesiai žalios spalvos. Žydėjimas tęsiasi nuo 10-ies iki 16-os savaitių, priklausomai nuo to, kada žiedai pasiekia brandą. Žiedų aromatas kinta, gali būti žemės arba saldus vaisių. Priešingai nei *C. sativa*, *C. indica* pasižymi itin stipriu, specifišku kvapu. Ši rūšis kilusi iš hašišą gaminančių valstybių – Pakistano, Afganistano, Maroko ir Tibeto, kadangi sukaupia didžiausią psichiką veikiančio Δ^9 -THC kiekį. *C. indica* yra žemesnio aukščio, tankiai šakota, ilgais ir tamsiai sodrios žalios spalvos lapais, kurie sukaupia daug chlorofilo. Nuo žydėjimo pradžios, žiedai subręsta per 6–8 savaites. *C. ruderalis* yra kilusi iš Centrinės Rusijos. Sukaupia labai mažą Δ^9 -THC, tačiau didelį CBD kiekį, dėl šios priežasties ši rūšis yra naudojama naujoms veislėms kurti. Pagal augalo dydį tai yra žemiausia rūšis lyginant su kitomis (žr. 1 pav.). Šios rūšies augalai greičiau subręsta, nes žydėjimo periodas yra susijęs su augalo branda, o ne su gaunamu šviesos kiekiu [15, 16].



1 pav. *Cannabis sativa* L. rūšys: *C. sativa*, *C. indica* ir *C. ruderalis* [14]

C. sativa yra greitai augantis dvinamis augalas, vyriški ir moteriški reprodukciniai organai yra atskiruose augaluose, augalus apdulkina vėjas. Augalas žydi kasmet, gali užaugti iki 5 metrų aukščio per 4–6 mėnesių laikotarpį. Auga atvirose, saulėtose vietose, derlingame dirvožemyje bei reikalauja daug maistinių medžiagų ir vandens. Auginamoms kanapėms nereikia naudoti pesticidų, nes augdamos jos sudaro didelį šešėlį ir piktžolėms augti sudaromos nepalankios sąlygos. Ilga šakninė sistema teigiamai veikia dirvožemio struktūrą, sumažinamas žalingų nematodų ir grybų skaičius. Stiebas status, tvirtas, tuščiaviduris ir smarkiai šakotas. Lapkočiai trumpi, dažniausiai su 5–9 lapeliais. Lapai lancetiški, vidutiniškai 10 cm ilgio su dantytais kraštais, augantys vienas priešais kitą [17].

Augalai turi tam tikrus ontogenezės tarpsnius, kuomet vystosi jų vegetatyvinė dalis ir generatyviniai organai. Kanapės gyvavimo ciklas yra suskirstytas į keturis pagrindinius etapus: sėklų sudygimas; vegetacija; žydėjimas ir sėklų formavimas; sunykimas. Optimali sėklų sudygimo temperatūra – 24 °C, minimali – 0 °C. Esant žemai temperatūrai sėklos sudygs lėčiau. Sėklų sudygimo trukmė siekia iki 7 parų. Vegetacijos periodo pradžioje augalas auga lėtai. Viso vegetacijos periodo metu susiformuoja nuo 7 iki 12 lapų porų. Augalas pirmiausiai pradeda žydėti apatiniuose, vėliau viduriniuose ir galiausiai viršutiniuose šluoteliniuose žiedynuose. Dvinamių vyriškųjų augalų žiedus sudaro kuokelės, o moteriškųjų – piestelės. Vyriškieji augalai yra aukštesni, pasižymi mažesne lapų ir žiedų gausa. Moteriškieji augalai yra lapuoti, lapai gaubia žiedynus. Įprastai vyriškieji augalai pradeda žydėti ankščiau nei moteriškieji. Per kelias savaites vyriškieji augalai išaugina gausų dulkinų kiekį, žiedadulkes vėjas nuneša ant piestelinių žiedų. Vyriškųjų augalų tikslas yra apdulinti moteriškuosius augalus (piesteles). Didžiausias vyriškųjų augalų žydėjimo pikas pasiekiamas tuomet, kai apie 50 % vieno augalo žiedų yra prasivėrę ir vėjas gali išnešioti jų žiedadulkes. Žydėjimo pabaiga pasiekama, kai apie 90 % visų augalų žiedų yra prasivėrę. Moteriškieji augalai pasiekia žydėjimo piką tuomet, kai apie 50 % pažiedžių žiedynuose yra susiformavę. Vyriškųjų augalų gyvavimo periodas yra trumpesnis nei moteriškųjų, kadangi netrukus po apdulkinimo vyriškieji augalai nuvyta. Taip moteriškiesiems augalams yra paliekama daugiau vietos, maisto medžiagų ir vandens, kad šie galėtų subrandinti sėklas. Po žydėjimo moteriškuose augaluose susiformuoja sėklos. Sėklos subręsta per 3–5 savaites. Sėklų branda pasiekama, kai 50 % sėklų sukietėja. Taip pat yra išveistos ir vienanamės kanapės, auginamos pluoštui gaminti, kuriose kuokeliniai ir piesteliniai žiedai auga ant to paties augalo (žr. 2 pav.). Po žydėjimo ir sėklų subrandinimo augalo lapai ir stiebai pradeda vysti. Sumažėjus drėgmės kiekiui augalai sumedėja, o atskirti spaliai yra panaudojami pluošto gamyboje [17, 18].



2 pav. *Cannabis sativa* L. augalai: dvinamiai ir vienanamiai [19]

Pluoštinių kanapių derliaus nuėmimo laikas labai skiriasi ir priklauso nuo auginimo tikslo bei šalies, kurioje jos auginamos. Lenkijoje kanapės auginamos tik sėkloms, o sėklų derlius nuimamas, kai sėklos subręsta ant stiebų esančiose vidurinėse šluotelėse. Italijoje, auginant kanapes pluoštui, jų derlius nuimamas pilno žydėjimo tarpsniu, o auginant sėkloms ir pluoštui – vienu mėnesiu vėliau. Kanapių derlius Prancūzijoje skirtas pluoštui gaminti yra nuimamas žydėjimo pabaigoje, o derlius skirtas pluoštui ir sėkloms – po 1–2 savaitių, praėjus pilnam žydėjimo tarpsniui. Ukrainoje auginamų pluoštui kanapių derlius nuimamas, kai daugumoje augalų yra brandžios individualios sėklos, o auginant pluoštui ir sėkloms – kai 75–80 % sėklų pasiekia biologinį brandumą. Olandijos kanapių augintojų patirtis rodo, kad geriausias kanapių pluoštas gaunamas, kai derlius yra nuimamas kanapių žydėjimo metu ir maždaug savaitė po žydėjimo. Vėliau pluoštas lignifikuojasi, prastėja jo kokybė [20].

1.2 *Cannabis sativa* L. veislių selekcija

Kanapių pasėliai gali augti įvairiose geografinėse klimato zonose ir pasaulio regionuose. Kinija, Europa ir Kanada yra trys svarbiausi kanapių auginimo regionai pasaulyje. 2011 m. kanapių pasėlių plotas visame pasaulyje sudarė 61 318 ha, iš jų 11 400 ha buvo Kinijoje, 14 344 ha – Europos Sąjungoje ir 15 720 ha – Kanadoje [21]. Lietuvoje legalizavus pluoštinių kanapių auginimą (2014 m.), didėja jų auginimo plotai, jų daugiau perdirbama, naudojama ir suvartojama. 2014 m. 79 augintojai buvo deklaravę 1 069 ha pluoštinių kanapių laukų, o 2018 m. 182 augintojai deklaravo beveik 4 000 ha. 2018 m. didžiausi plotai buvo apsėti 'Uso 31' (1 647,62 ha), 'Finola' (1 000,78 ha) ir 'Futura 75' (634,41 ha) veislių pluoštinėmis kanapėmis. Iš viso 2018 m. Lietuvoje auginta 16 pluoštinių kanapių veislių. Šie duomenys rodo, kad šiuo metu yra didelis susidomėjimas pluoštinės kanapės augalu, todėl naujai išvedamų veislių skaičius nuolat auga. Veislių selekcija daugiausia priklauso nuo kanapių produkcijos tikslo: skirtos pluoštui, sėkloms ar bendrai ir pluoštui ir sėkloms [20, 22].

Anksčiau buvo vykdoma masinė atranka siekiant išrinkti geriausias veisles, tokias kaip 'Carmagnola' Italijoje [23] arba 'Novosadka konoplia' Jugoslavijoje [24]. Masinės atrankos metu apdulkinimas negalėjo būti kontroliuojamas, dėl to veislių parinkimas vyko labai lėtai. Vėliau, remiantis Bredemann'o metodu [25], buvo atrenkami vyriški augalai su dideliu pluošto kiekiu. Vokiečių mokslininkas Von Segenbuch'as sukūrė pirmąsias vienanamių kanapių veisles Europoje, o profesorius Bocsa – veislinius hibridus, kurie turėjo didelį pluošto kiekį. De Meijer'is (1995) pranešė, kad ES buvo įregistruota 12 pluoštinių kanapių veislių, iš kurių tik 7 Prancūzijos veislės buvo lengvai prieinamos [26]. 2004 m. registruotų pluoštinių kanapių veislių skaičius padidėjo iki 45 [27], 2008 m. – iki 46 [28], o 2015 m. ES registruotų veislių skaičius siekė 68 (žr. 1 priedą) [29].

Kinijoje, dėl ilgos pluoštinių kanapių auginimo istorijos ir skirtingų geografinių klimato zonų, buvo sukurta šimtai veislių, pvz., 'Liuan HuoMa' ir 'Liuan HangMa' Anhujaus provincijoje, 'Laiwu DaMa' ir 'Laiyang DaMa' Šandongo provincijoje, 'Gushi KuiMa' Henano provincijoje, 'Wenxian DaBaiPi' Hebějaus provincijoje, 'Liuzhi DaMa' Guidžou provincijoje bei 'DayaoDaMa' ir 'Weishan DaMa' Junano provincijoje. Visos šios veislės yra vertingas pradinis išteklius toliau išvedant kanapių veisles, o kai kurios iš jų vis dar auginamos tam tikruose regionuose. Nuo 2007 m. kanapių veislių selekcijos tyrimai nuolat gauna finansinę paramą iš Kinijos žemės ūkio tyrimų

organizacijos. Buvo sukurtos penkios pluoštinių kanapių veislės (‘YunMa 1’, ‘YunMa 2’, ‘YunMa 3’, ‘YunMa 4’, ‘YunMa 5’), kurios plačiai auginamos Kinijoje. Kitos kanapių veislės, tokios kaip ‘LongDaMa 1’, ‘JinMa 1’, ‘WangDaMa 1’, ‘WangDaMa 2’ taip pat buvo registruotos ir auginamos tam tikrose provincijose [21].

Kai Kanadoje padidėjo susidomėjimas kanapių aliejaus gamyba, vyriausybė skyrė subsidijas rinkai palaikyti. Dėl to plėtėsi ir atsirado naujų kanapių perdirbimo įmonių, pagerėjo perdirbimo technologijos ir kanapių veislių selekcijos galimybės. Siekiant padidinti susidomėjimą kanapėmis, jos pradėtos augini kaip sertifikuotas biologinis augalas ir 2012 m. iš kanapių pagamintam maistui suteikta maisto saugos akreditacija [30]. Ilgą laiką dominavo ‘Finola’ (Suomija), ‘Crag’ (Kanada) ir ‘USO 14’ (Ukraina) veislės [31]. Drauge su Basto institutu (Ukraina) buvo pradėta Kanados veislių kūrimo programa, į kurią įtrauktos Ukrainos veislės: ‘USO 14’, ‘USO 31’, ‘Zolotonoshskaya 11’ (Zolo 11) ir Kanados veislės: ‘Anka’ ir ‘Carmen’ [32]. Nuo to laikotarpio buvo sukurta ir išbandyta daug aukštos kokybės veislių, tinkančių auginti įvairiomis sąlygomis, įskaitant vienanamius ir dvinamius augalus, auginamus sėklai ar pluoštui. Šiuo metu dažniausiai Kanadoje auginamos veislės yra ‘Alyssa’, ‘Anka’, ‘CRS-1’, ‘CFX-1’, ‘CFX-2’, ‘Delores’ ir ‘Finola’ [30]. 2018 m. Kanados patvirtintų pluoštinių kanapių veislių sąrašė yra 51 veislė, iš kurių 36 yra auginamos Kanadoje, o kitos – Europos šalyse (žr. 2 priedą) [33].

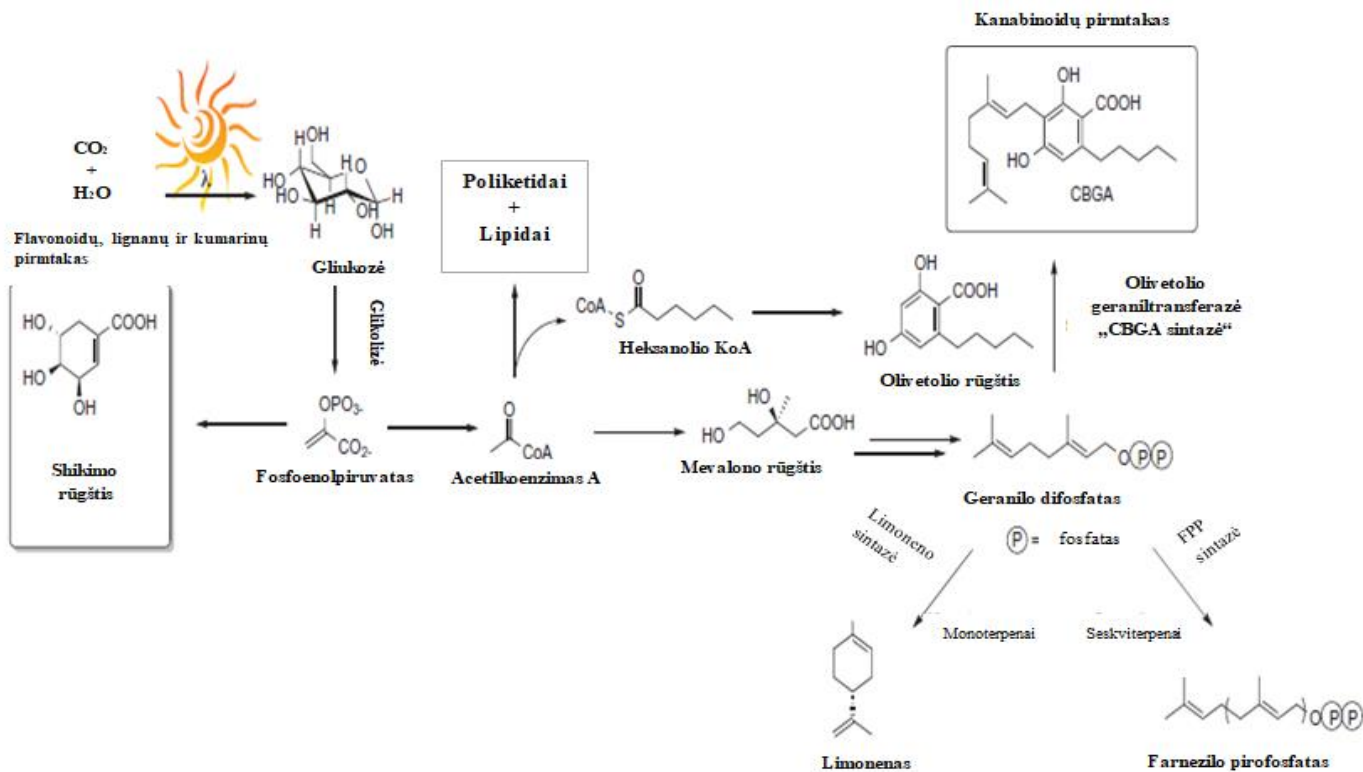
1.3 *Cannabis sativa* L. cheminė sudėtis ir junginių biosintezė

C. sativa sukaupia daugiau kaip 750 junginių, priskiriamų skirtingoms cheminių junginių klasėms [15]. Augalų metabolitai susidaro augalų ląstelėse vykstant medžiagų apykaitai. Pirminiai metabolitai – riebalai, baltymai, aminorūgštys, nukleorūgštys, sacharidai, chlorofilas *a* ir *b* yra gyvybiškai būtini. Antriniai metabolitai yra tarpiniai ir galutiniai medžiagų apykaitos produktai, kurie nėra gyvybiškai būtini, tačiau atlieka apsauginę funkciją. Antriniam metabolitams priskiriama 140 terpenų bei 86 terpenofenoliniai kanabinoidai, šių junginių kanapėse yra identifikuota daugiausiai (žr. 1 lent.) [34, 35].

1 lentelė. *Cannabis sativa* L. cheminė sudėtis [2, 34, 35]

Cheminė junginių klasė	Identifikuoti komponentai
Terpenai	140
Kanabinoidai	86
Angliavandeniai	50
Cukrūs	34
Azoto junginiai	27
Nekanabinoidiniai fenoliai	25
Riebalų rūgštys	23
Flovonoidai	23
Rūgštys	20
Ketonai	13
Esteriai ir laktonai	13
Aldehidai	12
Baltymai, fermentai, glikoproteinai	11
Steroidai	11
Mineralai	9
Alkoholiai	7
Vitaminai	3
Pigmentai	2

Terpenų, fitokanabinoidų, flavonoidų, kumarinų, poliketidų ir lipidų biosintezė *C. sativa* augale vyksta tuo pačiu keliu. Augalai naudoja saulės šviesą, anglies dioksidą ir vandenį, kad sukurtų šiuos cheminius junginius. Terpenai ir kanabinoidai biosintetininami per tarpinį konverguojantį geranilo difosfatą. Fermentiškai veikiant geranilo difosfatą galima gauti įvairius naudingus cheminius junginius: ganabigerolio rūgštį (CBGA), monoterpenus bei seskviterpenus (žr. 3 pav.) [14].



3 pav. *Cannabis sativa* L. cheminių junginių biosintezė [14]

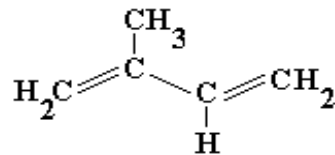
Fosfoenolpiruvatas yra pagrindinis daugelio cheminių junginių tarpinis biosintezės produktas, kuris yra gaminamas glikolizės metu. Fosfoenolpiruvatas gali būti paverčiamas į shikimo rūgštį, kuri yra flavonoidų, lignanų ir kumarinų pirmtakas. Kitu atveju, fosfoenolpiruvatas gali būti katabolizuojamas į acetilkoenzimą A, kuris yra lipidų ir poliketidų pirmtakas. Kanapės turi specialiai pritaikytus poliketido III sintazės ir olivetolio rūgšties ciklazės fermentus, kurie paverčia acetilkoenzimą A į olivetolio rūgštį [36]. Iš acetilkoenzimo A biozintezės būdu taip pat gali būti gaunamas geranilo difosfatas. Įdomu tai, kad geranilo difosfatas ir olivetolio rūgštis fermentiškai sąveikauja su olivetolio geraniltransferaze CBGA biosintezėje. Vėliau iš CBGA biosintetinės pagrindinės kanabinoidų rūgštys: kanabichromeno (CBCA), Δ^9 -tetrahidrokanabinolio (Δ^9 -THCA) ir kanabidiolio (CBDA). Natūraliai kanabinoidai egzistuoja rūgščių forma, tačiau esant šviesos ar šilumos poveikiui vyksta oksidacija ir rūgštys dekarboksilizuojasi bei virsta neutraliomis formomis (pvz., CBDA \rightarrow CBD). Kiti kanabinoidai gali susidaryti nefermentiniu skilimo būdu. [37]. Be to, geranilo difosfatas yra monoterpenų ir seskviterpenų biosintezės pirmtakas. Kiekvieno kanabinoido ir terpeno kiekis yra reguliuojamas pagal dominuojančių fermentų aktyvumą. Terpenai sintetini mažesniais kiekiais lyginant su kanabinoidais [38].

1.3.1 Eteriniai aliejai (EO) ir jų cheminė sudėtis

Terpenai ir fenilpropanoidai yra pagrindinės EO sudedamosios dalys, be šių sudėtinių dalių nedideliais kiekiais randama aromatinių bei alifatinių junginių. Daugelis terpenų yra angliavandeniai, tačiau nustatyta, kad deguonį turintys junginiai (alkoholiai, aldehydai arba ketonai) taip pat priskiriami terpenų klasei. Dėl to šie junginiai dažnai yra vadinami terpenoidais [39].

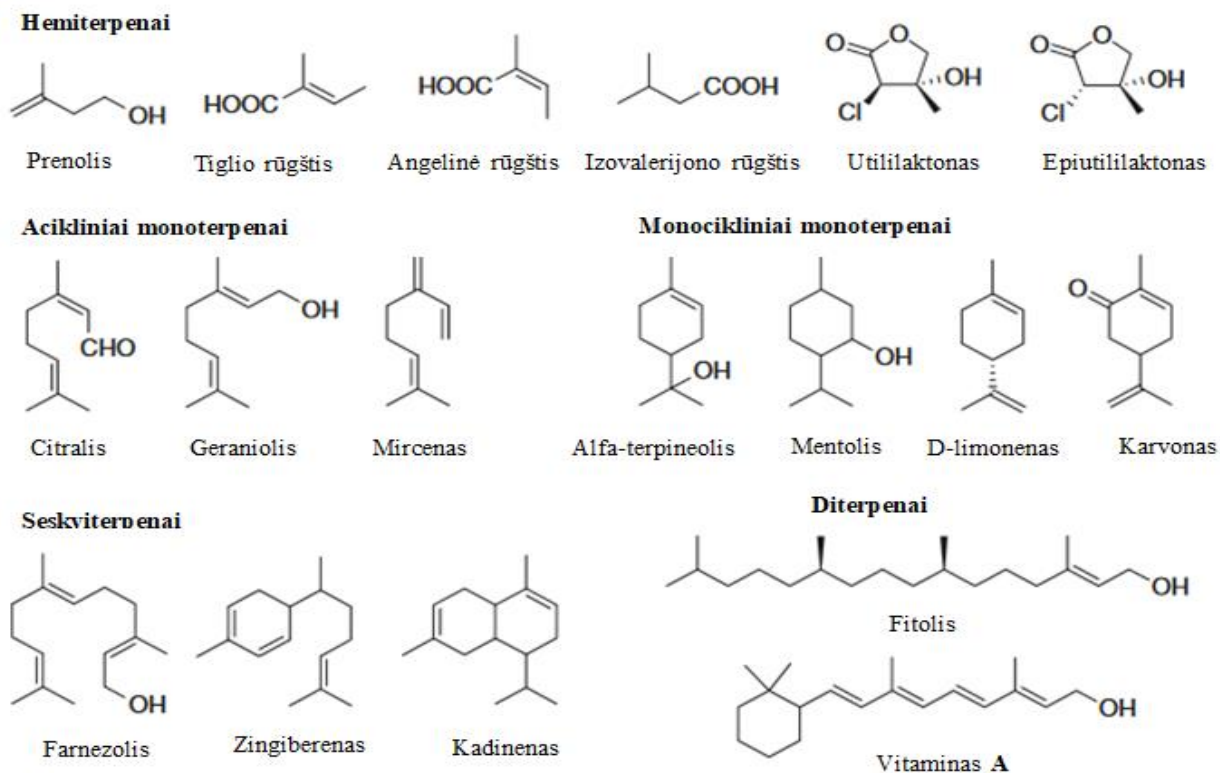
EO yra skysti, skaidrūs, dažniausiai bespalviai, tirpūs riebaluose ir organiniuose tirpikliuose junginiai, pasižymintys mažesniu tankiu nei vanduo. EO suteikia kanapėms unikalų kvapą. Žiedynų kvapas gali būti apibūdinamas kaip aitrus, vaisių ar pušų, priklausomai nuo aromatinių komponentų. Be pagrindinės savo funkcijos formuoti aromato profilį, gamtoje jie atlieka antibakterinį, antivirusinį, priešgrybelinį, insekticidinį vaidmenį, apsaugant augalus nuo mikroorganizmų, vabzdžių ir žolėdžių gyvūnų. EO taip pat pritraukia tam tikrus vabzdžius, kad lengviau paskleistų augalo žiedadulkes. Jų sintezė vyksta įvairiose augalų lapų epidermio organų ląstelėse ar jų grupėse (sekreciniuose audiniuose): egzogeninėse (liaukiniai plaukeliai) ir endogeninėse (sekrecinės ląstelės) talpose. Šių ląstelių yra augalo pumpuruose, žieduose, lapuose, stiebuose, šakose, žievėje, vaisiuose ir sėklose [34, 40].

Svarbiausia EO sudėtinė dalis – terpenai yra sudaryti iš izopreno (C_5H_8) molekulių (žr. 4 pav.). Pagal izopreno vienetų skaičių struktūroje jie klasifikuojami į hemiterpenus – 1 izopreno molekulė, monoterpenus – 2 izopreno molekulės, seskviterpenus – 3 izopreno molekulės, diterpenus – 4 izopreno molekulės, triterpenus – 6 izopreno molekulės, tetraterpenus – 8 izopreno molekulės, politerpenus – 100–5000 izopreno molekulių. Dažniausiai EO randami monoterpenai ($C_{10}H_{16}$) ir seskviterpenai ($C_{15}H_{24}$) [41].



4 pav. Izopreno molekulė [42]

Monoterpenai ir seskviterpenai dažnai klasifikuojami pagal anglies atomų grandinę, aciklinę arba ciklinę struktūrą ir pagal deguonį prisijungiančių junginių grupę (angliavandeniai, alkoholiai, aldehydai, ketonai arba esteriai). Monoterpenų aptinkama beveik visuose EO, tai vieni pagrindinių jų sudedamųjų komponentų. Tyrimai parodė, kad pluoštinės kanapės sukaupia monoterpenų nuo 48 iki 92 %. Monocikliniai monoterpenai yra labiausiai paplitę EO, tačiau aptinkama ir aciklinių bei biciklinių monoterpenų. Acikliniai angliavandeniai turi tipišką 2,6-dimetiloktano struktūrą su trimis dvigubomis jungtimis, o bicikliniai junginiai be heksano žiedo turi antrą žiedą su trimis, keturiais arba penkiais angliavandeniais. Seskviterpenai pasižymi didžiausia junginių įvairove lakiųjų terpenų grupėje, nors jų kanapės sukaupia tik nuo 5 iki 49 %. Seskviterpenų struktūra yra linijinė, šakota, arba ciklinė. Cikliniai seskviterpenai klasifikuojami į aciklinius, monociklinius ir biciklinius [43, 44]. Pagrindinės terpenų cheminės struktūros pateiktos 5-ame paveiksle.



5 pav. Pagrindinės terpenų cheminės struktūros [43]

EO yra natūralūs sudėtiniai mišiniai sudaryti iš 20–60 skirtingų koncentracijų komponentų. Dažniausiai randami du ar trys junginiai didelėmis koncentracijomis (20–70 %), o likusieji komponentai randami tik nedideliais kiekiais. Komponentai, kurių yra randama didžiausiomis koncentracijomis, nulemia EO biologines savybes. Dažnai lapuose seskviterpenų randama didesnėmis proporcijomis nei monoterpenų lyginant su žiedais [45]. Žieduose iš monoterpenų daugiausiai vyrauja mircenas (51,8 %), limonenas (9,3 %) ir linalolis (3,0 %), o lapuose iš seskviterpenų – trans-kariofilenas (21,1 %), α -kariofilenas (16,0 %) ir β -farnesenas (9,7 %). Atlikto tyrimo metu nustatyta, kad žieduose bendras monoterpenų kiekis sudaro 66,6 %, o seskviterpenų – 33,4 %. Kuomet lapuose bendras monoterpenų kiekis sudaro 25,9 %, o seskviterpenų – 74,1 % [7].

Aromatiniuose augaluose EO sudėtis priklauso nuo genetinio kintamumo, veislės, augalo organų, kuriuose gali būti randama skirtingos sudėties EO, vegetacijos periodo bei išorinės aplinkos sąlygų. EO turi būti atitinkamai laikomi, kadangi šviesos, deguonies ar šilumos poveikyje skyla arba kietėja [38, 44]. Vieno tyrimo metu apie 55 % lakiųjų komponentų sudedamųjų dalių buvo prarastos po 3 mėnesių laikymo [46].

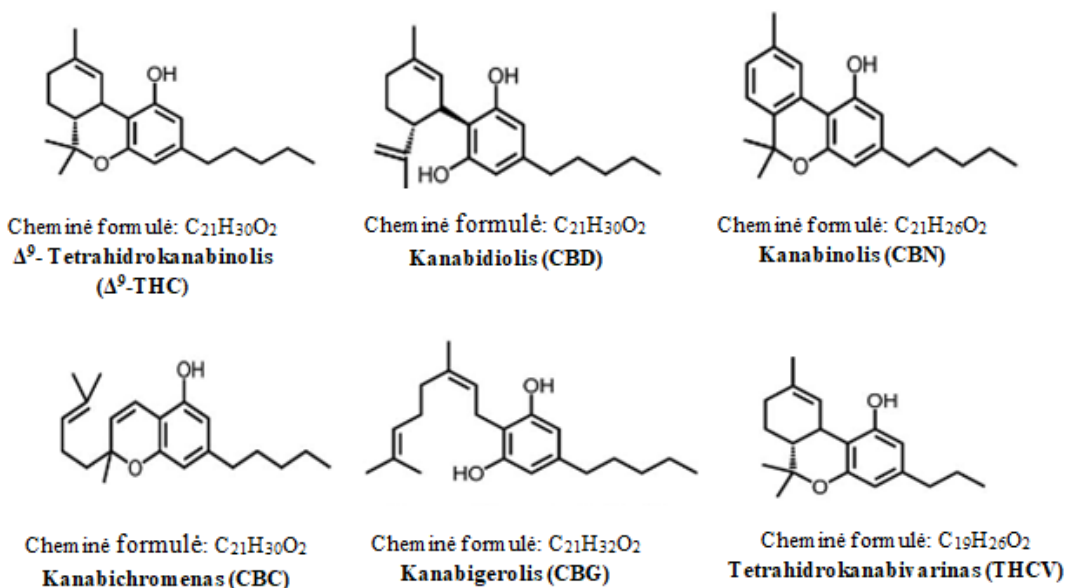
1.3.2 Fitokanabinoidai ir jų cheminė sudėtis

Kanapėse randama specifinė 21 anglies atomą turinti cheminių junginių klasė – terpenofenoliniai kanabinoidai. Terpenofenoliniai kanabinoidai skirstomi į rūgštinius, neutralius ir sintetinius. Kanabinoidų terminas yra vartojamas visiems: natūraliai esantiems ar sintetiniams augalų kanabinoidų junginiams. O natūraliai kanapėse sintetinami kanabinoidai vadinami fitokanabinoidais.

Fitokanabinoidų struktūra sudaryta iš izoprenilo fragmento sujungto su rezorcinolio tipo poliketido vienetu. Šiuo metu išskirta ir identifikuota daugiau kaip 100 skirtingų kanabinoidų, sugrupuotų į 11 cheminių tipų:

- (-)-delta-9-transtetrahidrokanabinolio (Δ^9 -THC) (9 žinomi junginiai),
- (-)-delta-8-transtetrahidrokanabinolio (Δ^8 -THC) (2 žinomi junginiai),
- kanabidiolio (CBD) (7 žinomi junginiai),
- kanabinolio (CBN) (7 žinomi junginiai),
- kanabichromeno (CBC) (5 žinomi junginiai),
- kanabigerolio (CBG) (7 žinomi junginiai),
- kanabinodiolio (CBND) (2 žinomi junginiai),
- kanabielsoino (CBE) (5 žinomi junginiai),
- kanabiciklolio (CBL) (3 žinomi junginiai),
- kanabitriolio (CBT) (9 žinomi junginiai)
- įvairių tipų (14 žinomų junginių) [2].

Daugelis kanabinoidų gaminami nedideliais kiekiais, todėl yra sunku atlikti jų išsamų tyrimą. Didesniais kiekiais aptinkama Δ^9 -THC, kuris pasižymi psichiką veikiančiu aktyvumu ir CBD, CBN, CBC, CBG bei tetrahidrokanabivarino (THCV), kurie psichikos neveikia ir pasižymi medicininėmis bei terapinėmis savybėmis. Pagrindinės fitokanabinoidų cheminės struktūros pateiktos 6-ame paveiksle. Kanabinoidai, kaip ir terpenai, yra sintezuojami egzogeninėse ir endogeninėse augalų organų ląstelėse tam, kad apsaugotų augalą ir jo reprodukcinius audinius nuo abiotinių veiksnių įtakos, pvz., didelio šviesos, temperatūros ar oksidacinio streso poveikio [16, 47].



6 pav. Pagrindinės fitokanabinoidų cheminės struktūros [48]

Šiuo metu daugelis kanapių veislių yra *C. sativa* ir *C. indica* rūšių hibridai, kuriuos sunku atskirti pagal jų morfologines savybes [49]. Pagal chemotipą (priklausomai nuo THC, CBD ir CBG kiekio), kanapės gali būti klasifikuojamos į narkotinio ir pluoštinio tipo veisles (žr. 2 lent.) [50].

2 lentelė. Kanapių chemotipai pagal vyraujančią kanabinoidą [51]

Chemotipas	Vyraujantis kanabinoidas	Kanabinoidų kiekis	Kanabinoidų santykis
I	THC	THC > 0,3 % CBD < 0,5 %	THC/CBD > 1
II	THC ir CBD	THC > 0,3 % CBD > 0,5 %	THC/CBD ≈ 1
III	CBD	THC < 0,3 % CBD > 0,5 %	THC/CBD < 1
IV	CBG	CBG > 0,3 % CBD < 0,5 %	Vyrauja CBG
V	Nėra kanabinoidų	Bendras kanabinoidų kiekis < 0,2 %	Nėra kanabinoidų

Pirmieji du chemotipai (I ir II) yra laikomi narkotinio tipo, kadangi jų THC kiekis yra santykinai didelis ir gali veikti psichiką. Kiti trys chemotipai (III, IV, V) yra laikomi pluoštinio tipo ir gali būti naudojami tiek tekstilės ir maisto pramonės, tiek farmacijos tikslais, kadangi THC kiekis yra mažas ir psichikos neveikia. Tik patvirtintos *C. sativa* veislės su mažesniu kaip 0,2–0,3 % Δ^9 -THC kiekiu, oficialiai leidžiamos auginti daugelyje Europos šalių, JAV ir Kanadoje [51].

Cheminė analizė yra greitas ir praktiškas būdas atskirti pluoštinio ir narkotinio chemotipo kanapes, tačiau tyrimai rodo, kad THC kiekis gali būti skirtingas įvairiose augalo dalyse. Žieduose THC susikaupia 10–12 %, lapuose – 1–2 %, stiebuose – 0,1–0,3 % ir šaknyse – < 0,03 %. THC pėdsakų aptinkama sėklų lukštuose (< 3 $\mu\text{g/g}$) ir branduoliuose (< 2 $\mu\text{g/g}$ narkotinio chemotipo ir < 0,5 $\mu\text{g/g}$ pluoštinio chemotipo kanapėse). Dėl šios priežasties, skirtingos to paties augalo dalys gali būti klasifikuojamos į skirtingus chemotipus. Kanabinoidų koncentracija augale skiriasi priklausomai nuo veislės, amžiaus, augalo rūšies (vyriški ar moteriški augalai), taip pat nuo vegetacijos periodo ir aplinkos sąlygų: temperatūros, šviesos ir drėgmės, derliaus nuėmimo ir sandėliavimo sąlygų [51]. Nustatyta, kad kanabinoidų koncentracija mažėja išilgai stiebo, nes didžiausias jų kiekis yra aptinkamas augalų viršutiniuose lapuose [52].

1.3.3 Fenoliniai junginiai ir jų cheminė sudėtis

Fenoliniai junginiai, dar vadinami fenilpropanoidais, yra viena iš labiausiai paplitusių antrinių metabolitų grupių augalų karalystėje. Juos sudaro daugiau kaip 10 000 skirtingų struktūrų, įskaitant fenolines rūgštis (benzoinė ir hidroksicinamono), flavonoidus (flavonoliai ir flavonai) bei stilbenus ir lignanus [53]. Kanapėse nustatyta apie 20 skirtingų flavonoidų, kurių dauguma priklauso flavonų ir flavonolių poklasiui [10]. Jiems priskiriamos aglikonų: apigenino, luteolino, kampferolio ir kvercetino *O*-glikozidų formos. Kanflavinas A ir kanflavinas B yra unikalūs ir tik kanapėse randami bei antioksidanciniu aktyvumu pasižymintys flavonoidai [54]. Fenoliniai amidai ir lignanamidai yra aptinkami kanapių vaisiuose ir šaknyse. Fenoliniams amidams yra priskiriami N-trans-kumaroiltiraminas, N-trans-feruloiltiraminas ir N-trans-kafeoiltiraminas. O lignanamidams yra priskiriami kanabizinais -A, -B, -C, -D, -E, -F, -G ir grosamidais [55]. Kanabizinas D aptinkamas kanapių lapuose po stipraus UVC spindulių apdorojimo [56]. Kanapių sėklose dominuojantys

lignanai yra siringarezinolis, mediorezinolis, sekoizolarisirezinolis, larisirezinolis ir pinorezinolis [57]. Kanapėse identifiukuota 19 stilbenų, kurių struktūrinis pagrindas yra spiranai, fenantrenai ir bibenzilai [10]. Jiems priskiriami kanapių stilbenai I, IIa ir IIb, taip pat dihidroresveratrolis. Įdomu tai, kad bibenzilo stilbenai, įskaitant galimą 3-*O*-metilbatatasiną, buvo identifiukuoti stipriai paveikus kanapių lapus UV spinduliais [56].

1.4 *Cannabis sativa* L. farmakologinis poveikis

Dėl įvairių natūraliai kanapėse esančių junginių pasireiškia farmakologinis jų poveikis. Šie junginiai gali būti klasifikuojami į keletą skirtingų junginių klasių priklausomai nuo struktūros, funkcijos ir farmakologinio poveikio. Pagrindinės junginių grupės kanapėse, turinčios reikšmingą gydomąjį poveikį, yra terpenai ir kanabinoidai. Šie junginiai sudaro daugiau kaip 20–30 % sausų kanapių žiedų svorio. Kita junginių grupė turinti gydomąjį poveikį yra flavonoidai, kurie sudaro mažesnę dalį, t. y. vidutiniškai 1–5 % sausų kanapių žiedų svorio.

Fitokanabinoidų ir terpenų kompozicija priklauso nuo kanapių veislės ir tam tikro jų vegetacijos periodo. Dėl šios priežasties farmakologinis jų poveikis yra skirtingas. Nustatytas statistiškai reikšmingas teigiamas ryšys tarp terpenų ir fitokanabinoidų kiekio. Galima teigti, kad specifinių fitokanabinoidų ir terpenų kiekio reguliavimas gali pagerinti farmakologinį poveikį, priklausomai nuo ligos pobūdžio. Neseniai buvo išauginti didelį CBD kiekį kaupiantys kanapių augalai, turintys daugiau kaip 15 % CBD ir mažiau nei 1 % THC. Siekiant optimizuoti kiekvieno junginio gamybą būtina gerai suprasti jų raidą augimo metu [14].

Kanapių farmakologinis poveikis žmogaus organizme pasireiškia sinergistine arba antagonistine sąveika tarp bioaktyviųjų junginių. Šių sąveikų veikimo mechanizmai: i) biologinis įsisavinimas; ii) ląstelių transportavimo proceso interferencija; iii) veikliųjų medžiagų aktyvinimas arba deaktyvinimas; iv) veikliųjų medžiagų sinergistinis veikimas skirtinguose taškuose, toje pačioje signalinėje sistemoje (daugiafunkcinis efektas); v) prisijungimo prie tikslinių baltymų inhibicija [58].

CBD, flavonoidai ir terpenai yra bioaktyvieji junginiai, pasižymintys sinergistine ir antagonistine sąveika su THC. CBD veikia THC farmakokinetiką įvairiais mechanizmais: i) suspenduojant membranų daleles ir taip padidinant THC įsiskverbimą į raumenis; ii) sustabdant kepenyse citochromo P450 inicijuotą vaistų metabolizmą, kuris yra susijęs su molekulės suardymu ir pašalinimu [59]. Nustatyta, kad flavonoidai ir terpenai taip pat turi įtakos THC farmakokinetikai, kadangi flavonoidai slopina kepenų P450 fermentus (3A11 ir 3A4), o terpenai padidina kraujo ir smegenų barjero pralaidumą. Kanabinoidų farmakologinis poveikis priklauso nuo jų sąveikos su kanabinoidų receptoriais (CB). CB₁ receptoriai pagrindė aptinkami centrinėje nervų sistemoje (smegenų neuronuose, stuburo smegenyse), tačiau gali būti randami ir periferiniuose organuose bei audiniuose. CB₂ receptoriai labiausiai paplitę imuninėje ir virškinimo sistemose. Stimuliuojant CB₁ receptorių yra sukiamas farmakologinis poveikis panašus į marihuanos poveikį. Padažnėja širdies ritmas, sutrinka koordinacija ir pusiausvyra, sulėtėja reakcijos laikas, susilpnėja trumpalaikė atmintis. THC turi stiprų prisijungimo ryšį su CB₁ ir CB₂ receptoriais, o CBD atvirkščiai, jungiasi silpnai. Dėl to, CBD gali veikti antagonistiskai ir net sušvelninti THC poveikį, blokuodamas jo

virtimą į psichoaktyvesnį 11-hidroksi-THC junginį. Terpenai taip pat gali keisti THC prisijungimą prie CB₁ receptorių, sąveikauti su neurotransmiterių receptoriais ir taip sumažinti neurodegeneracinių ligų atsiradimo riziką bei pasireikšti skausmą malšinančiu poveikiu. Atsižvelgiant į fitokanabinoidų ir terpenų sinergijos potencialą buvo pasiūlyta pritaikyti naujus terapinius gydymus, pvz., CBD ir terpenų ekstraktai naudojami aknei, depresijai, nerimui, nemigai, demencijai ir įvairioms priklausomybėms gydyti [60, 61].

1.4.1 Eterinių aliejų (EO) farmakologinis poveikis

Terpenai pasižymi plačiu farmakologinių savybių spektru [60, 62]. EO komponentai, kurie viršija 0,05 % koncentraciją yra svarbūs farmacijoje [38]. EO pasižymi priešvėžiniu, priešnavikiniu, priešūždegiminiu, antioksidaciniu, antiaritminiu, antiagregaciniu, antimikrobiniu, antidiabetiniu, antihistaminu, antispazminiu ir anestezuojančiu poveikiu [63].

α -Pinenas yra labiausiai palitęs monoterpenas gamtoje, dideliais kiekiais randamas spygliuočiuose. Šis monoterpenas yra dažnai vyraujantis terpenas kanapėse (23 ± 17 %) [64]. α -Pinenas yra acetilcholino inhibitorius ir gali pagerinti atmintį, taip pat veikti prieš THC sukeltus atminties sutrikimus [65]. Tyrimų su pelėmis metu nustatytas α -pineno proapoptozinis ir antimetastazinis aktyvumas gydant metastazinę melanomą [66]. α -Pinenas pasižymi antioksidaciniu ir priešūždegiminiu poveikiu. Tyrimo rezultatai parodė α -pineno antioksidacinį ir apsauginį poveikį prieš vandenilio peroksido (H₂O₂) sukeltą oksidacinį stresą PC12 ląstelėse [67]. Taip pat nustatyta, kad žmogaus glioblastomos U373 ląsteles abdorojus α -pinenu, sumažėjo H₂O₂ sukeltas oksidacinis pažeidimas ląstelių gyvybingumo ir morfologijos atžvilgiais. Šis monoterpenas paskatino ROS neutralizavimą, sumažino lipidų peroksidacijos lygį bei padidino antioksidacinių fermentų kiekį: superoksido dismutazės (SOD), katalazės (CAT), glutationo peroksidazės (GPX), glutationo reduktazės (GSR), hemo oksigenazės-1 (HO-1) [68]. Priešūždegiminis α -pineno poveikis pasireiškė lipopolisacharidų sukeltos citokinų: interleukino 6 (IL-6), interleukino 1 β (IL- β) ir navikų nekrozės faktoriaus α (TNF α) gamybos slopinimu [69]. Iširta, kad α -pinenas veikė priešūždegimiškai ūminio pankreatito atveju, t. y. sumažėjo kasos svoris lyginant su kūno svoriu, taip pat sumažėjo fermentų amilazės ir lipazės koncentracija kraujyje. Įkvėpus, α -pinenas gali veikti anksiolitiškai ir raminančiai [70]. Raminantis α -pineno poveikis pasireiškia tiesiogiai jungiantis prie γ -aminobutyriinės rūgšties (GABA) receptorių benzodiazepinų vietoje [71].

β -Pinenas kaip ir α -pinenas yra vienas gausiausiai aptinkamų monoterpenų spygliuočiuose, jis taip pat randamas kanapėse ($6,1 \pm 0,4$ %) [72]. Eksperimentuose su pelėmis buvo įrodytas β -pineno (100 mg/kg kūno svorio) antidepresinis ir raminamasis poveikis [73]. Bendras β -pineno ir β -ciklodekstrino komplekso poveikis sukėlė antihipertenzinį poveikį žiurkėms [74]. Šis kompleksas taip pat sužadino endotelio vazorelaksaciją, kadangi slopino Ca²⁺ jonų apykaitą L-tipo Ca²⁺ kanaluose. Be to, β -pineno ir β -ciklodekstrino kompleksas kartu su paklitakseliu (vaistas nuo vėžio) veikė prieš plaučių vėžio ląsteles [75]. Nustatytas β -pineno antivirusinis aktyvumas prieš *Herpes simplex* virusą [76].

Mirceno koncentracija kanapėse sudaro 63 ± 11 % bendro EO kiekio. Mircenas tradiciškai naudojamas medicinoje diabetui, viduriavimui, dizenterijai ir hipertenzijai gydyti [77]. Mircenas veikia sinergiškai su kanabinoidais ir teigiamai veikia ląstelių membranų pralaidumą, ypač kraujo ir smegenų barjero pralaidumą [78]. Mirceno priešuždegiminis ir antikatabolinis poveikis gali sulėtinti osteoartrito progresavimą. Tyrimų su pelėmis metu nustatyta, kad mircenas sumažino širdies audinio pažeidimus, atsiradusius po smegenų išemijos/reperfuzijos, padidinant ląstelinio antioksidanto glutationo (GSH) ir antioksidacinių fermentų (GPX, CAT ir SOD) kiekį [79]. Mircenas taip pat slopino tiobarbitūrinės rūgšties reaktyviųjų medžiagų (TBARS) susidarymą. Visi šie mechanizmai sumažino degeneracinių nervų sistemos ligų atsiradimo riziką. Kito tyrimo rezultatai parodė, kad žiurkėms skiriant mirceno 200 mg/kg kūno svorio per parą, jos buvo apsaugotos nuo aplinkos teršalo 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioksino (TCDD), kuris sukelia kepenų pažeidimus [80]. Be to, ištirta, kad mircenas neleidžia susidaryti opoms. Suvartojus 7,50 mg/kg kūno svorio mirceno, padidėjo GPX, GSR ir GSH koncentracija skrandžio audiniuose [81]. Mircenas taip pat buvo veiksmingas prieš oksidacijos sukeltą genotoksiškumą, kurį dažniausiai sukelia ROS [82].

Terpinoleno koncentracija kanapėse gali sudaryti iki 55 % bendro lakiųjų komponentų kiekio [83]. Fosfatidilinozitolio 3-kinazė (PI3K) aktyvina baltymų kinazę B (Akt), kuri dalyvauja ląstelių metabolizme, proliferacijoje bei angiogenezės procese. Visi šie procesai turi įtakos navikų augimui ir formavimuisi. Nustatyta, kad 0,05 % terpinoleno koncentracija mažina Akt ekspresiją mielogeninės leukemijos (K562) ląstelėse [84]. Tyrimai parodė, kad terpinolenas nebuvo genotoksiškas žmogaus limfocitams [85]. Įkvėpus (0,1 mg) terpinoleno, pelėms pasireiškė raminamasis poveikis [86]. Analgetinis terpinoleno veikimo mechanizmas yra siejamas su 5-HT_{2A} receptoriais. Be to, terpinolenas veiksmingai veikė prieš mažo tankio lipoproteinų (LDL) oksidaciją kraujo plazmos preparatuose. Šis apsauginis terpinoleno poveikis leidžia išvengti aterogenezės ir išeminės širdies ligų atsiradimo rizikos [87].

Limoneno koncentracija gali sudaryti iki 56 % kanapių terpenų frakcijos [83]. Limonenas, kaip ir daugelis EO komponentų, pasižymi antioksidacinėmis ir priešvėžinėmis savybėmis. Nustatyta, kad limonenas yra puikus prevencinis mitybos šaltinis siekiant išvengti kasos, krūtų, skrandžio ar prostatos vėžio [88]. Tyrimų su pelėmis metu nustatytas limoneno anksiolitinis poveikis panašus į diazepamą vaistų, kurie turi raminamąjį, migdomąjį poveikį, slopina nerimą, traukulius ir atpalaiduoja raumenis [89]. Limonenas pasižymi antidepresantiniu poveikiu, veikiant per 5-HT_{1A} receptorių bei priešuždegiminiu poveikiu astmos ir osteoporozės ligų atvejais [90, 91]. Nustatyti limoneno priešvėžinio veikimo būdai: sukelia ląstelių apoptozę bei veikia chemopreventiškai. Limonenas metabolizuojamas į perililo alkoholį, kuris taip pat pasižymi navikų augimą stabdančiu poveikiu. Limonenas nėra toksiškas, o mirtina dozė žmogui yra 0,5–5 g/kg kūno svorio [92]. Atliktų tyrimų metu nustatyta, kad pacientams sergantiems vežiu suvartojus 2 g limoneno per parą (2–6 savaites), atsirado reikšmingų metabolitų pokyčių kraujyje. Atlikta metabolitų analizė parodė, kad sumažėjo baltymo (ciklino D1) kiekis, kuris skatina ląstelės nenustojamą dalijimąsi, taip pat sumažėjo antinksčių išskiriamų steroidų kiekis. Normaliai antinksčių žievėje susidaro nedideli steroidinių hormonų kiekiai, tačiau esant tam tikriems navikams, jų biosintezė gali sustiprėti [93]. Taip pat nustatyta, jog limonenas teigiamai veikė žaizdų gijimą chemiškai indukuoto dermatito ir mechaninių odos pažeidimų atvejais, kadangi sumažėjo išskiriamų citokinų IL-6 ir TNF- α

kiekis [94]. Be to, pažeidus nervus mechaniškai 10 mg/kg kūno svorio limoneno koncentracija pasižymėjo antihiperalgезiniu poveikiu [95]. Nepaisant to, vartojant limoneną atsistatė antioksidacinių fermentų kiekis ir reikšmingai sumažėjo uždegiminių žymenų rodiklių: inkstų toksiškumo žymens KIM-1 bei šlapalo ir kreatinino koncentracija kraujyje. Kito tyrimo rezultatai parodė, kad limonenas (50 mg/kg kūno svorio) gali veikti raminančiai kaip relaksantas ir paralyžiuoti motorinių nervų galūnes tam, kad neleistų nerviniam impulsui plisti į raumenis. Be to, mokslinių tyrimų duomenys rodo, kad limonenas gali prailginti miego trukmę ir pasižymėti antidepressantiniu poveikiu [95, 96].

β -Kariofilenas yra dominuojantis seskviterpenas kanapėse, kuris sudaro iki 64 % bendro lakiųjų komponentų kiekio [83]. Yra žinoma, kad β -kariofilenas selektyviai prisijungia prie CB_2 receptorių, juos aktyvina ir sukelia maksimalią reakciją (visiškas agonistas), todėl kartais yra klasifikuojamas kaip netipinis kanabinoidas. Dėl šios priežasties, β -kariofilenas (5 mg/kg kūno svorio) pasižymi stipriu priešuždegiminiu ir analgetiniu aktyvumu [97]. β -Kariofilenas malšina neuropatinį skausmą ir neurodegeneracinių ligų: Parkinsono ir Alzheimerio atsiradimo riziką. Atliktų tyrimų metu nustatytas β -kariofileno (100 mg/kg kūno svorio) poveikis prieš traukulius, kuriuos sukelia pentilenetrazolis (PTZ) [98]. Iširtas naudingas β -kariofileno poveikis išsėtinei sklerozei (25 mg/kg kūno svorio, du kartus per parą) yra susijęs su neuroūždegiminių procesų slopinimu, reguliuojant interleukino 10 (IL-10) ir sumažinant interferono γ (IFN- γ) citokinų gamybą. β -Kariofilenas taip pat susilpnina TNF α išsiskyrimą ir sumažina prostaglandinų (PGE-2), azoto oksido sintazės (iNOS) ir ciklooksigenazės (COX-2) išraišką [99]. Atliekant tyrimus su žiurkėmis nustatyta, kad β -kariofilenas su hidroksipropil- β -ciklodekstrinu sumažino kraujagyslinės demencijos kognityvinius trūkumus ir mokymosi bei atminties sutrikimus [100]. Šis seskviterpenas turi įtakos vėžio prevencijai, kadangi stabdo navikinių ląstelių augimą ir proliferaciją. β -Kariofilenas kartu su humulenu ir izokariofilenu pasižymėjo sinergistiniu priešvėžiniu aktyvumu MCF-7, DLD-1 ir L-929 ląstelių tyrimuose [101]. Pagrindinė β -kariofileno funkcija yra proapoptopinių ir vėžį slopinančių genų ekspresijos sužadinimas. Be to, jis gali sustiprinti klasikinių vėžio vaistų veiksmingumą, didinant jų koncentraciją ląstelėse [102]. Žiurkėms, kurioms pasireiškė hipercholesterolemija, pritaikius gydymą su β -kariofilenu buvo apsaugotas širdies audinys nuo aterosklerozės. Antioksidacinių medžiagų poveikis sumažino lipidų oksidacijos laipsnį (ROS ir TBARS kiekis) širdies audinyje bei padidino GSH lygį bei GPX aktyvumą. Nepaisant to, šis seskviterpenas slopino aterogeninio indekso (AI) ir koronarinio rizikos indekso (CRI) didėjimo perspektyvas [103]. β -Kariofilenas mažina bendrą cholesterolio ir trigliceridų kiekį serume, o makrofagų įsiskverbimas į aortos paviršių buvo stabdomas [104]. Be to, eksperimentų rezultatai rodo, kad β -kariofilenas sumažina lėtinio alkoholio vartojimo poveikį ir su tuo susijusį kepenų pažeidimą. Šis apsauginis poveikis taip pat yra siejamas su selektyviu β -kariofileno prisijungimu prie CB_2 receptorių [105].

Kariofileno oksidas dažnai aptinkamas *Cannabaceae* šeimos EO ir gali sudaryti iki 44 % bendro terpenų kiekio [106]. Kariofileno oksidas yra β -kariofileno oksidacijos darinys, tačiau priešingai nei jo pirmtakas, jis nepasižymi selektyviu prisijungimu prie CB_2 receptorių. Nepaisant to, šis terpenas pasižymi priešvėžiniu ir analgetiniu poveikiu [102]. Yra žinoma, kad 15-lipoksigenazės (15-LOX) fermentas reaguoja su riebalų rūgštimis, kurios gamina aktyvius lipidų metabolitus, dalyvaujančius I ir II tipo diabeto, širdies ir kraujagyslių, hipertenzijos, inkstų ir neurodegeneracinių ligų susidarymo

procesuose. Tyrimai parodė, kad kariofileno oksidas veikia kaip stiprus priešūždegiminis agentas slopindamas 15-LOX fermentų aktyvumą [107]. Suvartojus 12,5 mg/kg kūno svorio kariofileno oksido pasireiškė analgetinis ir priešūždegiminis poveikis [108]. Kariofileno oksidas taip pat sulaiko kalcio ir kalio jonus, dėl šios priežasties gali būti naudojami aritmijų gydymui [109]. Galiausiai, kariofileno oksidas pasižymi ne tik antioksidacinėmis, bet ir baktericidinėmis bei fungicidinėmis savybėmis [110, 111].

Humulenas yra vienas iš dominuojančių seskviterpenų *C.sativa* augale, kurio koncentracija sudaro 19 ± 8 % [64]. Humulenas taip pat žinomas kaip α -kariofilenas, tačiau neturi ciklobutano žiedo kaip β -kariofilenas ir dėl to nepasižymi selektyviu prisijungimu prie CB₂ receptorių [83]. Nepaisant to, humulenas kaip ir kiti EO komponentai pasižymi priešūždegiminėmis ir priešvėžinėmis savybėmis. Gydymas humulenu (50 mg/kg kūno svorio) sumažino citokinų TNF α ir IL- β bei uždegiminių žymenų rodiklių: PGE₂, iNOS ir COX-2 kieki. Dėl šių savybių humulenas (5 mg/kg kūno svorio) buvo veiksmingas prieš edemą [112]. Nustatyta, kad humulenas (100 mg/ml) gali iš esmės padidinti priešūždegiminio citokino IL-8 sekreciją žmogaus epitelio gaubtinės ir tiesiosios žarnos ląstelėse (Caco-2). Yra žinoma, kad IL-8 pasižymi proangiogeninėmis savybėmis ir turi įtakos navikų susidarymo prevencijai [113]. Skirtingose vėžio ląstelėse humulenas sumažino GSH kiekį ir skatino ROS gamybą, o tai lėmė vėžio ląstelių augimo slopinimą [114].

α -Bisabololio koncentracija kanapėse sudaro iki 17 % bendro EO kiekio [83]. α -Bisabololis pasižymi stipriomis antimitageninėmis savybėmis ir veikia prevenciškai prieš leukemiją, kasos ir krūtų vėžį [115]. Šis terpenas sukelia vėžio ląstelių apoptozę bei sumažina fibroblastų kiekį, kurie dalyvauja angiogenezeje [116]. Atliekant bandymus su vaisinių muselių vabzdžiais *Drosophila*, maisto papildas su 5 μ M α -bisabololio buvo veiksmingas prieš rotenono sukeltą muselių mirtingumą, jų judėjimo sutrikimus bei aukštą oksidacinio streso poveikį ląstelėms [116]. Nustatyta, kad α -bisabololis taip pat sumažino oksidacinio streso bei uždegiminio proceso sukeltą poveikį, susijusį su skrandžio pažeidimu, kuris buvo indukuotas etanoliu. α -Bisabololis (100 mg/kg kūno svorio) veikė prieš indometacino sukeltą opą, padidino biologinį skrandžio sulfhidrilo grupių įsisavinimą bei reguliavo malondialdehidų (MDA), mieloperoksidazių (MPO), SOD, CAT ir nitritų kiekius [117]. Kito tyrimo rezultatai parodė α -bisabololio (100 mg/kg kūno svorio) nefroprotektinį poveikį ūminio inkstų pažeidimo atveju. α -Bisabololis sumažino uždegiminio žymens rodiklio KIM-1 lygį ir atstatė palankius TBARS bei GSH kiekius inkstų audiniuose [118]. Mokslininkai nustatė, kad α -bisabololis (30 mg/kg kūno svorio) veikia priešūždegimiškai ir gali nuslopinti lipopolisacharidų sukeltą uždegimą plaučių audinyje [119]. Tyrimų rezultatai parodė, kad α -bisabololis taip pat geba sumažinti priešūždegiminių citokinų TNF- α ir IL-6 gamybą [120]. Be to, šis terpenas (1 mg/kg kūno svorio) parodė anksiolitines ir raminamąsias savybes prisijungiant prie GABA receptorių [121]. Galiausiai, α -bisabololis yra veiksmingas prieš daugelį vaistams atsparių bakterijų, virusų ir grybų bei veikia sinergiškai su kai kuriais antibiotikais [122].

1.4.2 Fitokanabinoidų farmakologinis poveikis

Dauguma kanabinoidų biologinių savybių, taip pat ir farmakologinis jų poveikis, žmogaus organizme priklauso nuo jų sąveikos endokanabinoidų sistemoje. Endokanabinoidų sistemą sudaro du G baltymai sujungti su kanabinoidų receptoriais CB₁ ir CB₂ ir endogeniniai ligandai: anandamidas ir 2-arachidonilglicerolis [123]. CB₁ receptoriai endokanabinoidų sistemoje reguliuoja neurotransmiterių išsiskyrimą tam, kad būtų palaikyta organizmo homeostazė ir išvengiama pernelyg didelio neuronų aktyvumo centrinėje nervų sistemoje. Šie receptoriai dalyvauja įvairių sužadavimo ir slopinimo mediatorių veikloje: acetilcholino, noradrenalino, dopamino, 5-hidroksitriptamino (5-HT), GABA, glutamato, D-aspartato ir cholecistokinino [124]. CB₂ receptoriai endokanabinoidų sistemoje reguliuoja citokinų gamybą imuninėse ląstelėse bei imuninių ląstelių migraciją tiek centrinės nervų sistemos viduje, tiek ir už jos ribų. Endokanabinoidai dalyvauja įvairių fiziologinių procesų: apetito, insulino, skausmo pojūčio, atminties, nuotaikos, uždegimo, riebalų bei energijos apykaitos reguliavime [125].

Δ^9 -THC aktyvina CB₁ ir CB₂ endokanabinoidų sistemos receptorius stipriausiai iš esamų kanabinoidų, nors receptoriai ir nėra aktyvinami maksimaliai, o tik iš dalies (dalinis agonistas). Δ^9 -THC pasižymi psichiką veikiančiomis savybėmis, kadangi CB₁ receptoriai yra aktyvinami 10 kartų stipriau nei CB₂. Be to, Δ^9 -THC pasižymi imunomoduliuojančiomis ir priešuždegiminėmis savybėmis, kurios pasireiškia dėl CB₂ receptorių aktyvacijos. Δ^9 -THC taip pat yra veiksmingas gydant kai kuriuos sutrikimus: anoreksiją, pykinimą, neuropatinio skausmo mažinimą išsėtinės sklerozės ir vėžio atvejais. Receptiniai kanapių ekstrakto veikliųjų medžiagų Δ^9 -THC ir CBD vaistai, pvz., Sativex[®], Bediol[®] ir Bedrocan[®] yra naudojami pacientų neuropatinio skausmo, epilepsijos traukulių bei šalutinio vėžio chemoterapijos poveikio mažinimui. Šiuo metu yra vartojamas Δ^9 -THC (dronabinolio) vaistas skirtas vėžio ir chemoterapijos sukeltam pykinimui ir vėmimui lengvinti bei stimuliuoti ŽIV/AIDS pacientų apetitą [126, 127]. Galimas potencialus Δ^9 -THC panaudojimas ligų gydymui yra apribotas dėl jo neigiamo poveikio centrinei nervų sistemai, apimant suvokimo sutrikimus, haliucinacijas, disforiją, depersonalizaciją ir mieguistumą [128].

CBD pasižymi farmakologinėmis savybėmis, kadangi yra CB₁ receptorių antagonistas, jungiasi su receptoriais, bet jų neaktyvina. Prisijungusi CBD antagonisto molekulė neleidžia su receptoriais susijungti agonisto molekulėms ir taip blokuoja neigiamą Δ^9 -THC sukeltą poveikį. Tyrimų su žmonėmis ir gyvūnais metu nustatyta, kad priešingai nei Δ^9 -THC, CBD nesukelia neigiamo poveikio centrinei nervų sistemai ir neturi įtakos širdies susitraukimų dažniui bei kraujospūdžiui. CBD silpnai aktyvina CB₂ receptorius ir veikia kaip mažo veiksmingumo agonistas. Dėl šio poveikio CBD pasižymi anti-pykinimo, anti-artritinėmis, antipsichotinėmis, priešuždegiminėmis ir imunomoduliacinėmis savybėmis [126, 127]. Be to, CBD pasižymi stipriomis antioksidacinėmis savybėmis ir gali neutralizuoti ROS. Tai labai reaktyvūs deguonies ciklo produktai, kurie sąveikauja su ląstelėmis ir sukelia jų pažeidimus. Ištirta, kad CBD antioksidacinis poveikis prieš H₂O₂ sukeltą oksidacinę ląstelių pažeidimą buvo vienodas arba geresnis nei askorbato (vitamino C) ar tokoferolio (vitamino E) [129]. CBD yra labai perspektyvus kanabinoidas, jis taip pat parodė potencialą gydant centrinės nervų sistemos ligas, pvz., epilepsiją, neurodegeneracines (Hantingtono, Parkinsono, Alzheimerio ir kt.) ligas, šizofreniją, išsėtinę sklerozę, emocinius ir mitybos sutrikimus [127]. Iš bioaktyviųjų junginių CBD pasižymi stipriausiu prieštraukuliniu poveikiu. Tyrimų su žmonėmis

metu nustatyta, kad naudojant 900–1200 mg/kg kūno svorio CBD per parą, jis buvo veiksmingas prieš epilepsijos sukeltus traukulius [130]. CBD neuroprotekcinis poveikis yra susijęs su smegenų kraujotakos padidėjimu, aktyvinant serotonerginį 5-HT_{1A} receptorių. Šio receptoriaus aktyvinimas taip pat turi įtakos migrenos, nerimo ir miego sutrikimų gydymui [131]. Nustatyta, kad CBD taip pat slopina gliomos, leukemijos, krūtų ir kt. vėžio formų atsiradimo riziką. Mokslininkai ištyrė, kad CBD yra stipriausias priešnavikinis kanabinoidas. CBD sukelia navikinių ląstelių apoptozę tiesioginiu ar netiesioginiu, kanabinoidų CB₂ ir vaniloido subgrupės 1 (TRPV1), receptorių aktyvavimu [132]. Įdomu tai, kad CBD turi priešgrybelinių ir antibakterinių savybių, pvz., veikia prieš meticilinui atsparų *Staphylococcus aureus* (MRSA) [133].

Po THC ir CBD, CBC yra trečias labiausiai paplitęs fitokanabinoidas. CBC silpnai aktyvina kanabinoidų CB₁ ir CB₂ receptorius, dėl to gali sustiprinti endokanabinoidų ir slopinti ligando anandamido veikimą [134]. CBC pasižymi priešuždegiminiu [135], raminančiu, analgetiniu [136], antibakteriniu bei priešgrybeliniu poveikiu [133]. Tyrimai su graužikais parodė, kad CBC ekstraktas pasižymėjo antidepresiniu poveikiu [137]. Be to, CBC stimuliuoja katijonų kanalo ankyrino-1 (TRPA1) Ca²⁺ jonų aktyvaciją žmogaus embriono inkstų 293 ląstelėse [138]. Taip pat nustatyta, kad CBC citotoksiškai gali veikti vėžio ląsteles [132].

CBG rūgštinė forma yra kitų pagrindinių kanabinoidų pirmtakas. CBG nepasižymi psichiką veikiančiomis savybėmis, kadangi labai silpnai aktyvina CB₁ ir CB₂ receptorius (dalinis agonistas). Dėl šios priežasties, CBG funkcionaliai antagonizuoja Δ⁹-THC sukeltą CB₁ receptorių aktyvaciją. Įrodyta, kad CBG sumažina akispūdį, o tai yra potencialiai naudinga gydant glaukomą. Be to, CBG pasižymi antioksidacinėmis ir priešuždegiminėmis savybėmis, o tai leidžia išvengti uždegiminių žarnyno ligų. Naujausi tyrimų duomenys rodo, kad CBG potencialiai gydo gaubtinės žarnos vėžį [132].

CBN yra Δ⁹-THC oksidacijos produktas, tai pirmasis išgrynintas fitokanabinoidas. CBN pasižymi dvigubai mažesne CB₁ ir trigubai didesne CB₂ receptorių aktyvacija lyginant su Δ⁹-THC. CBN turi prieštraukulinių ir priešuždegiminių savybių bei pasižymi stipriu poveikiu prieš MRSA [139]. Nustatyta, kad CBN taip pat dalyvauja mezenchimo susidaryme kaulų čiulpuose ir padeda formuoti kaulams [140]. Nepaisant to, CBN taip pat aktyviai veikia prieš krūtų vėžį [141].

Δ⁹-THCV yra Δ⁹-THC propilo analogas ir veikia kaip žymiai silpnesnis agonistas. Dėl šios priežasties, Δ⁹-THCV gali sumažinti Δ⁹-THC intoksikaciją 25 % [60]. Esant didesniai Δ⁹-THCV kiekiui, CB₁ receptoriai yra aktyvinami [126], tačiau esant mažesniai kiekiui, šis kanabinoidas gali veikti ir kaip šių receptorių antagonistas [142]. Ištirta, kad 3 mg/kg kūno svorio Δ⁹-THCV sumažino maisto suvartojimo kiekį ir nutukimo susirgimo riziką. Tyrimų su pelėmis metu nustatyta, kad Δ⁹-THCV sumažino kūno svorį, kūno riebalų ir kraujo serumo leptino koncentraciją [143]. CB₂ receptoriai yra aktyvinami iš dalies (dalinis agonistas), dėl to Δ⁹-THCV taip pat pasižymi priešuždegiminėmis savybėmis, geba sumažinti hiperalgezijos simptomus [144]. Be to, Δ⁹-THCV veiksmingas gydant epilepsiją, kadangi aktyvina neuromediatoriaus GABA receptorius. Šių receptorių aktyvinimas sumažina elektrinį galvos smegenų aktyvumą ir padeda išvengti traukulių [126].

Δ^9 -THCA ir CBDA rūgštys yra fitokanabinoidų Δ^9 -THC ir CBD pirmtakai, kurių farmakologinis poveikis pasireiškia kitais mechanizmais nei klasikiniu prisijungimu prie CB₁ ir CB₂ receptorių [145]. THCA *in vitro* turi įtakos dviejų pereinamųjų receptorių potencialo (TRP) jonų kanalų funkcijoms, veikia kaip stiprus ankyrino-1 (TRPA1) receptorių agonistas ir kaip melastatino-8 (TRPM8) receptorių antagonistas bei slopina abu ciklooksigenazės fermentus: COX1 ir COX2. Tyrimų su žiurkėmis metu nustatyta, kad THCA yra geresnė alternatyva, susijusi su vėžio chemoterapija, pykinimui ir vėmimui gydyti [146, 147]. Taip pat ištirta, kad THCA *in vitro* susilpnino TNF- α citokinų išsiskyrimą ir taip sumažino uždegiminį atsaką [132]. Nustatyta, kad CBDA yra selektyvus COX2 inhibitorius ir atitinkamai mažina organizmo uždegiminį atsaką [148]. Skirtingai nuo savo giminingų atstovų, CBDA veiksmingai geba sumažinti pasireiškiantį pykinimą ir gali būti naudojamas chemoterapijose [146].

1.4.3 Fenolinių junginių farmakologinis poveikis

Kanapėse esantys fenoliniai junginiai veikia kaip antioksidantai ir apsaugo ląsteles nuo laisvųjų radikalų sukeliama jų pažeidimo. ROS bei RNS gali sukelti deoksiribonukleorūgščių (DNR), ribonukleorūgščių (RNR), angliavandenių, lipidų, fermentų ar baltymų oksidacines modifikacijas. Atliktų tyrimų su žmonėmis metu ištirta sąveika tarp fenolinių junginių ir lėtinių ligų bei nustatyta, kad suvartojant daugiau fenolinių junginių sumažėja lėtinių, pvz., vėžio, širdies ir kraujagyslių bei neurodegeneracinių ligų susirgimo rizika [149]. Deja, šis teigiamas poveikis sveikatai negali būti paaiškintas tik fenolinių junginių antioksidacinėmis savybėmis, nes jie yra prastai įsisavinami. Nepaisant to, fenoliniai junginiai reguliuoja endogeninių antioksidacinių fermentų kiekį (SOD, CAT, GPX) *in vivo*, kurie tiesiogiai dalyvauja ROS ir RNS nukenksminime [9]. Jie taip pat gali daryti poveikį nespecifinių baltymų surišimo sąveikomis prisijungiant ir funkcionaliai sąveikaujant su kanabinoidų receptoriais (CB) [8]. Fenoliniai junginiai pasižymi priešuždegiminėmis ir priešvėžinėmis savybėmis bei apsaugo nuo neurodegeneracinių ligų susirgimo rizikos [53].

Flavonas apigeninas slopina TNF- α citokinų išsiskyrimą ir potencialiai gydo sklerozę, reumatoidinį artritą, psoriazę ir kitas autoimunines ligas. Apigeninas taip pat yra stiprus CYP2C9 kepenų fermento inhibitorius, kuris metabolizuoja daugelį vaistų, įskaitant THC [150]. Šis flavonas pasižymi anksiolitinėmis ir estrogeninėmis savybėmis. Apigeninas prisijungia prie centrinių benzodiazepino receptorių ir dėl to sukelia stiprų anksiolitinį aktyvumą panašų į diazepamą vaistų, tačiau, priešingai, neturi neigiamo poveikio atminčiai ir mokymuisi [151]. Specifiniai kanapių flavonoidai kanflavinas A ir B pasižymi stipriomis priešuždegiminėmis savybėmis, kadangi slopina uždegiminių žymenų: PGE-2 ir 15-LOX kiekį [152]. Tyrimuose su žiurkėmis nustatyta, kad flavonoidai: C-diglikosilflavonai, orientinas ir kvercetas inhibuoja akies lęšiuko fermento aldazės reduktazės aktyvumą ir taip sumažina kataraktos atsiradimo riziką [10]. Lignanamidai pasižymi priešuždegiminiu [153] ir citotoksiniu aktyvumu [154]. Lignanai taip pat pasižymi plačiu savybių spektru: antioksidaciniu, antivirusiniu, antidiabetiniu, antinavikiniu. Įdomu tai, kad sekoizolarisirezinolis, larisirezinolis ir pinorezinolis žarnyne veikiant anaerobinei mikroflorai yra paverčiami į enterolignanų, kurie yra žinduolių estrogenų pirmtakai. Dėl struktūrinio enterolignanų panašumo į žinduolių estrogenus, šie junginiai yra potencialūs gydant kai kurias vėžio formas susijusias su hormonų pokyčiais [155].

1.5 Bioaktyviųjų junginių ekstrakcijos metodai

Moksliniu ir praktiniu požiūriu vienas svarbiausių etapų yra bioaktyviųjų junginių ekstrakcija iš augalinės žaliavos. Ekstrahavimas – tai veiklių junginių išskyrimas iš tirpalo arba sausos medžiagos naudojant atitinkamą tirpiklį, nesimaišantį su ekstrahuojamu mišiniu [156]. Bioaktyviųjų junginių ekstrakcijai yra naudojami tiek tradiciniai (maceracija, perkoliacija, hidrodistiliacija, ekstrakcija Soksleto aparatu), tiek šiuolaikiniai ekstrakcijos metodai (ekstrakcija ultragarsu, mikrobangų ekstrakcija, pagreitinta ekstrakcija organiniais tirpikliais, superkritinių skysčių ekstrakcija ir kt.). Klasikiniai ekstrakcijos metodai yra paprasti, nereikalaujantys sudėtingos aparatūros, tačiau užimantys daug laiko, taip pat jiems atlikti sunaudojami dideli brangių ir toksiškų tirpiklių kiekiai. O šiuolaikiniai ekstrakcijos metodai yra greiti, jų metu sunaudojami mažesni tirpiklių kiekiai, tačiau jiems reikalinga sudėtinga ir brangi aparatūra. Parinkus tam tikrą ekstrakcijos metodą gaunami koncentruoti ekstraktai, kurie gali būti panaudojami tolesniuose tyrimų etapuose. Pagrindinis ekstrahavimo tikslas yra maksimali aukštos kokybės veiklių junginių išėiga. Vienas iš svarbiausių veiksnių, nulemiančių veiklių junginių kokybę, yra ekstrakcijos metodo parinkimas. Netinkamai parinkta metodika turi įtakos veiklių junginių cheminių komponentų pakeitimui [157]. Ekstrakcijos proceso išėiga priklauso nuo:

- dalelių dydžio. Mažesnis žaliavos dalelių dydis padidina paviršiaus plotą su kuriuo sąveikauja tirpiklis, padidėja difuzijos greitis;
- tirpiklio. Paprastai tirpiklis parenkamas taikant principą „panašus tirpina panašų“, t. y., polinės medžiagos geriau tirpsta poliniuose tirpikliuose, o nepolinės medžiagos – nepoliniuose. Išbandoma keletas tirpiklių ir tinkamiausias parenkamas atsižvelgiant į ekstrakcijos išėigą, atrankumą bei tirpiklio toksiškumą;
- temperatūros. Keliant temperatūrą didėja difuzijos greitis, veiklių junginių tirpumas, tačiau aukštoje temperatūroje termolabilūs junginiai skyla greičiau;
- laiko. Svarbu užtikrinti optimalią ekstrakcijos trukmę, kadangi pernelyg ilga ekstrakcija sąlygoja bioaktyviųjų junginių oksidaciją, be to, ilgėjant ekstrahavimo laikui difuzijos greitis mažėja ir procesas tampa neekonomiškas [156].

1.5.1 Hidrodistiliacija (HD)

Hidrodistiliacija (HD) yra vienas pagrindinių tradicinių distiliacijos metodų, kuomet kaitinant vandenį su augaline žaliava yra išskiriami lakūs komponentai iš augalų ląstelių membranų. Ši ekstrakcija atliekama naudojant *Clevenger* aparatą (žr. 7 pav.) [157].

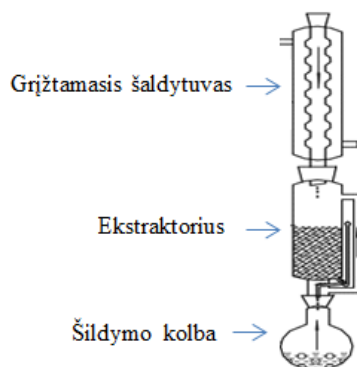


7 pav. *Clevenger* hidrodistiliacijos aparatas [157]

Išskiriant EO susmulkinta augalinė žaliava yra patalpinama į apvaliadugnę kolbą su distiliuotu vandeniu ir kaitinama. Pagrindiniai fizikocheminiai hidrodistiliacijos procesai apima hidrodifuziją, hidrolizę ir temperatūros poveikį. Augalinių ląstelių membranose esantys EO yra beveik nepralaidūs. Dėl šios priežasties, verdančio vandens temperatūroje dalis lakiųjų junginių ištirpsta vandenyje ir osmozės būdu pereina iš ląstelių membranų. Garai perneša EO į vandens šaldytuvo vamzdelį, kur garas kondensuojasi atgal į skystį. Surinktuve susirenka du distiliato sluoksniai: vandens sluoksnis ir organinis sluoksnis (EO). Kadangi EO yra lengvesnis už vandenį, tai jo dalelės lieka vandens paviršiuje ir jos yra lengvai atskiriamos. Pagrindinis hidrodistiliacijos privalumas – gaunamas grynas, be pašalinių priemaišų EO. Pagrindiniai metodo trūkumai: jautrūs aukštai temperatūrai junginiai hidrolizuojasi, ekstrakcijos trukmė yra ilga. Ilga ekstrakcijos trukmė sąlygoja ilgesnį lakiųjų komponentų ir vandens sąlytį bei dėl to vykstančią junginių hidrolizę. Esteriai yra EO sudedamoji dalis, tačiau vykstant hidrolizei susidaro rūgštys bei alkoholiai. Kaip teigiama, didžiausia EO išgava ir priimtina kokybė pasiekama hidrodistiliaciją atliekant kuo žemesnėje temperatūroje ir augalinę žaliavą smulkinant iki mažų dalelių [157].

1.5.2 Soksleto (SOK) ekstrakcija

Soksleto aparatą sudaro šildymo kolba, ekstraktorius ir grįžtamasis šaldytuvas (žr. 8 pav.). Augalinė žaliava dedama į kapsulę ir talpinama į ekstraktorių. Tirpiklis šildymo kolboje virinamas, jo garai per platesnę antgalio atšaką patenka į kondensatorių, kondensuojasi ir laša ant ekstrahuojamos medžiagos. Ekstraktoriuje prisirinkus tirpiklio iki sifoninės atšakos aukščio, jis nuteka atgal į šildymo kolbą. Operacija yra kartojama tol, kol ekstrahavimas baigiasi. Tirpiklį išgarinus lieka veikliosios medžiagos [158].

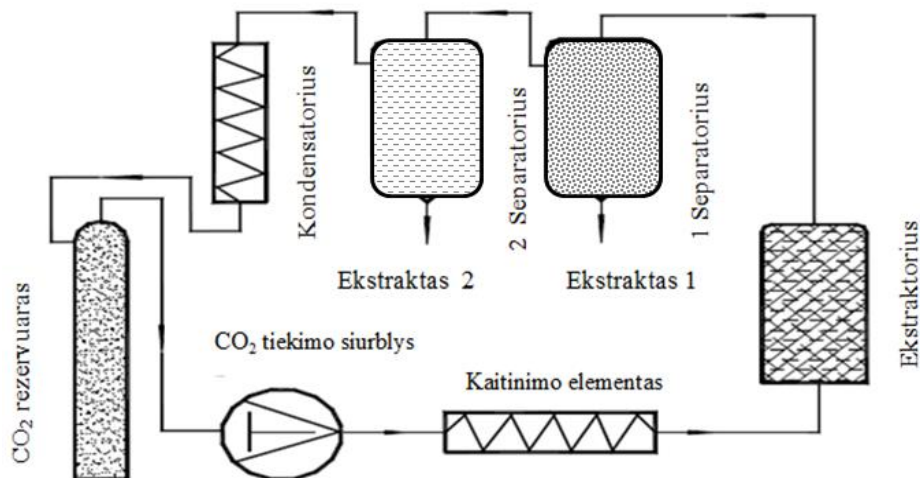


8 pav. Soksleto (SOK) aparatas [158]

Pagrindiniai Soksleto ekstrakcijos privalumai: žaliava kaskart veikiama švairiu perdistiliuotu tirpikliu, todėl veikliosios medžiagos lengviau pereina į tirpiklį; palaikoma santykinai aukšta ekstrahavimo temperatūra šildymo kolboje; nereikalinga filtracija po ekstrakcijos. Nepaisant to, Soksleto metodas yra paprastas ir pigus. Pagrindiniai šio metodo trūkumai: ekstrakcijos trukmė yra ilga; sunaudojamas didelis kiekis tirpiklio; ekstrakcija negali būti paspartinta maišymu; tirpiklį reikia nugarinti; termolabilūs junginiai ekstrahavimo metu gali skilti aukštoje tirpiklio virimo temperatūroje [159].

1.5.3 Superkrizinė skysčių ekstrakcija anglies dvideginiu (SFE-CO₂)

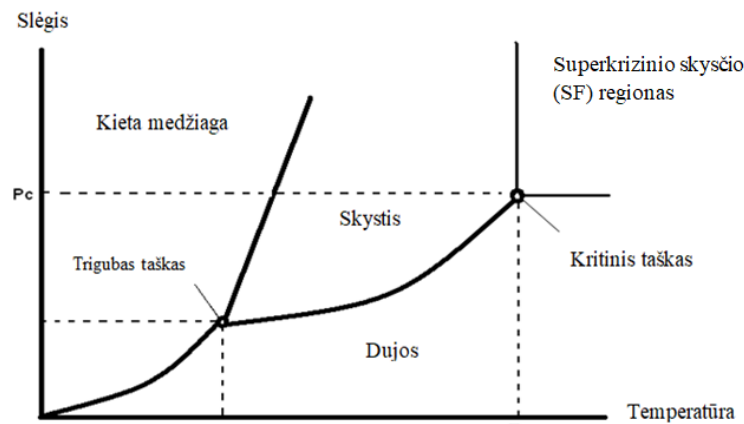
Superkrizinės skysčių ekstrakcijos (SFE) metu augalinė žaliava yra patalpinama į ekstrakcijos celą, kuri yra sujungta su temperatūros ir slėgio reguliatoriais siekiant išlaikyti norimas ekstrahavimo sąlygas. Superkrizinei ekstrakcijai atlikti gali būti naudojamos šios dujos: CO₂, N₂, CH₄, C₂H₆, N₂O, SO₂, C₃H₈, C₃H₆, NH₃, SF₆. Sumažėjus CO₂ kainai ir atsiradus kitų organinių junginių apribojimams, šios dujos tapo vienos pagrindinių tirpiklių SFE. Suslėgtos CO₂ dujos ekstraktoriuje cirkuliuoja uždara kilpa, kuri padalijama į dvi dalis: aukštesnio ir žemesnio slėgio zonas. Aukšto slėgio zonoje CO₂ dujos, suslėgtos iki superkrizinio skysčio būklės, teka per ekstraktorių, kuriame sukrauta augalinė žaliava ir išneša iš jos veikliuosius junginius. Perėjęs specialų vožtuvą superkrizinis CO₂ skystis praranda slėgį ir savybes, o ekstraktas surenkamas specialiame inde. Keičiant SFE-CO₂ parametrus galima vykdyti frakcionavimą ir ekstraktą išskirstyti į dvi ar daugiau grupių, taip atskiriant lakius ir mažiau lakius junginius. Keičiant pirmojo separatoriaus (S₁) slėgį ir jį atšaldžius, atskiriama vaškų frakcija, o lakūs komponentai surenkami antrajame separatoriuje (S₂). CO₂ regeneruojamas, kondensuojamas ir sugražinamas atgal į darbinį ciklą (žr. 9 pav.) [160, 161].



9 pav. Superkrizinės skysčių ekstrakcijos anglies dvideginiu (SFE-CO₂) proceso schema [158]

Normaliomis sąlygomis medžiaga yra kietame, skystame ar dujiniame agregatiniame būvyje. Atsižvelgiant į skirtingas temperatūros ir slėgio vertes, kreivės grafike žymi sublimacijos, lydymosi bei garavimo procesų ribas, kuriomis atskiriamos skirtingos agregatinės būsenos (žr. 10 pav.). Šios kreivės susikerta trigubame taške. Medžiagos trigubas taškas yra tokia temperatūra ir slėgis, kuomet tos medžiagos trys agregatinės būsenos (dujos, skystis ir kietą medžiaga) egzistuoja termodinaminėje pusiausvyroje. SFE paremtas CO₂ dujų savybe transformuotis į specifinę būklę, kuri vadinama superkriziniu skystiu. Skystis yra superkriziniame būvyje tuomet kai, tiek jo temperatūra (T_C), tiek slėgis (P_C) yra virš jų kritinio taško. Jei virš kritinio taško yra tik vienas iš šių parametru, tokiu atveju skystis yra subkritiniame būvyje. Pasiekus kritinį tašką nesvarbu kiek padidėja slėgis ar temperatūra, medžiaga negali transformuotis iš dujų į skystį arba iš skysčio į dujas. Fazių diagramoje laukas virš T_C ir P_C reikšmių yra apibrėžiamas kaip superkrizinis regionas. Tai reiškia, kad superkrizinis skystis turi dujų ir skysčių savybių. CO₂ kritinį tašką pasiekia esant 31 °C temperatūrai ir 7,3 MPa slėgiui. Kritinis taškas yra būdingas kiekvienai medžiagai, kuris

susidaro dėl kiekvienos medžiagos T_C ir P_C charakteristikų. Dėl superkritinių skysčių mažo klampumo ir sąlyginai aukšto difuzijos koeficiento vyksta greitas medžiagų pernešimas, todėl jie tinka lakių ir šilumai labilių junginių ekstrakcijai [162].



10 pav. Medžiagos fazinė diagrama [162]

CO_2 dujos yra naudojamos dėl jų didelio grynumo, jos lengvai pašalinamos iš ekstrakto, netoksiškos, nedegios, neteršia aplinkos, pasižymi selektyvumu bei chemišku inertiškumu. Keičiant slėgį ir temperatūrą galima keisti tirpiklio gebėjimą tirpinti skirtingus augalo junginius. SFE- CO_2 ekstrakcijos metu iš augalo galime išskirti bioaktyvius lipofilinius junginius: riebalus, vaškus, pigmentus, vitaminus, aromatinius ir kt. junginius. Šie ekstraktai išsiskiria savo tiršta ir vaškinga konsistencija, turi gydomųjų ir kosmetinių komponentų – antioksidantų, polifenolinių junginių, karotenų, fitosterolių, antocianų ir t. t. Antra vertus, CO_2 nėra tinkamas tirpiklis polinių junginių ekstrakcijai, kadangi jis veikia kaip nepolinis skystis tam tikromis temperatūros ir slėgio sąlygomis. Nepaisant to, siekiant padidinti ekstrakcijos poliškumą gali būti naudojami organiniai tirpikliai (1–10 %): etanolis, acetonas, metanolis, acetonitrilas, vanduo, etilo eteris, dichlormetanas. Dažniausiai naudojamas metanolis, nes jis yra efektyvus polinis tirpiklis, kuris gerai maišosi su CO_2 . Vis dėlto, bioaktyviųjų junginių ekstrakcijai kaip organinį tirpiklį reikėtų rinktis etanolį, nes jis pasižymi mažiausiu toksiškumu. Esminis organinių tirpiklių trūkumas yra tas, kad jie gali pabloginti selektyvumą bei padidinti klampą, kuri turi įtakos sumažėjusiam difuzijos koeficientui [163, 164].

Pagrindiniai kintamieji, turintys įtakos SFE efektyvumui: temperatūra, slėgis, dalelių dydis, žaliavos drėgmės kiekis, ekstrahavimo laikas, CO_2 srautas bei tirpiklio kiekis. Pagrindiniai SFE privalumai: selektyvumas ir frakcionavimo galimybė, kadangi cheminės medžiagos tirpumas superkritiniame skystyje gali būti valdomas keičiant skysčio slėgį ir (arba) temperatūrą; žema ekstrakcijos temperatūra leidžia išsaugoti šilumai jautrius junginius; greita ekstrakcija, kadangi superkritinio skysčio difuzija yra didesnė nei kitų skysčių ir dėl to pagerėja masių pernaša; gaunamas grynas ekstraktas, kadangi superkritinis skystis lengvai atskiriamas sumažinus slėgį; ekstraktas apsaugomas nuo oro ir šviesos poveikio, dėl to junginių skilimo proceso tikimybė yra žymiai mažesnė nei ekstrahuojant kitais metodais; palankesnis aplinkai metodas, nes nenaudojami arba naudojami nedideliais kiekiais organiniai tirpikliai. Nepaisant to, šis metodas turi ir trūkumų: brangi aparatūra; netinka polinių junginių ekstrahavimui, pvz., fenoliniams junginiams [165, 166].

1.6 Bioaktyviųjų junginių analizės metodai

Dažniausiai naudojami veikliųjų medžiagų skirstymo, gryninimo ir analizės metodai yra dujų chromatografija (GC) ir efektyvioji skysčių chromatografija (HPLC). Chromatografijos metu tiriamoji medžiaga praleidžiama pro adsorbentu užpildytą kolonėlę, ant kurios adsorbuojasi tos medžiagos komponentai. Tiriamosios medžiagos komponentų išėjimo iš kolonėlės greitis priklauso nuo adsorbcijos intensyvumo [167].

Visos chromatografinės sistemos susideda iš dviejų dalių: stacionariosios ir judriosios fazių. GC analizėje junginiai yra išgarinami ir eliuuojami judriojoje dujų fazėje, kuri juda per kolonėlę pastoviu greičiu. Analizių skirstymas yra paremtas santykinu išgarinimo slėgiu ir skirtingu analitės giminingumu (afinitetu) stacionariam fazės paviršiui. Nešančiosios dujos GC analizėje gali būti helis, vandenilis, azotas ar argonas. GC analizatoriai gali būti montuojami su tam tikrais detektoriais: liepsnos jonizacijos detektoriumi (GC-FID) ir masių spektrometru su laiko skriejimo masių analizatoriumi (GC-TOF/MS). FID nustato anglies atomų kiekį mėginyje, o TOF/MS suteikia informacijos apie analizuojamo bandinio struktūrą, kad būtų galima identifikuoti analitę chromatogramoje. HPLC yra paremta analizių pasiskirstymu tarp dviejų skirtingo poliškumo fazių. Priešingai nei GC, vietoj dujų, judriosios fazės vaidmenį atlieka skystis, kurį sudaro tirpiklis ar tirpiklių mišinys. Analizių skirstymas yra paremtas tik skirtingu analitės giminingumu (afinitetu) stacionariam fazės paviršiui. HPLC analizatoriai dažnai montuojami su ultravioletinių ir matomos srities spindulių sugerties detektoriumi UV/Vis, kuriuo matuojama pratekančio tirpalo absorbcija. Tradiciškai GC naudojama analizuojant nepolinius ir lakius junginius, pvz., sterolius, aliejus, trumpos grandinės riebalų rūgštis, aromatinius junginius, pesticidus, pramoninius teršalus. HPLC yra naudojama norint atskirti visus organinius cheminius junginius, nepriklausomai nuo jų poliškumo ar lakumo [41, 167].

Chromatografija yra vienas pagrindinių EO, fitokanabinoidų ir fenolinių junginių analizės metodų. GC įprastai tinkama nustatyti lakiesiems ir dekarboksilintiems junginiams, kadangi jie lengvai išgarinami. Laki EO frakcija sudaro 90–99 %, ją apima monoterpenų ir seskviterpenų angliavandeniai bei jų deguonies dariniai kartu su alifatiniais aldehydais, alkoholiais ir esteriais. O nelaki EO frakcija sudaro 1–10 %, ją apima angliavandeniai, riebalų rūgštys, steroliai, karotinoidai, vaškai bei deguonies heterocikliniai junginiai (kumarinai, psoralenai ir polimetoksilinti flavonai). Lakūs EO komponentai yra analizuojami GC, o nelakūs – HPLC. GC taip pat pasižymi didesniu našumu palyginus su kitais metodais, tačiau aukšta injektavimo temperatūra, kuri būdinga GC analizei, dekarboksilizuoja kanabinoidų rūgštines formas. Dėl to, sunku kiekybiškai įvertinti bendrą kanabinoidų kiekį. Be to, junginiams turintiems ribotą lakumą prieš GC analizę reikia atlikti papildomą jų apdorojimą – derivatizaciją (silininimas arba metilinimas karboksilinių grupių). Yra žinoma, kad HPLC analizės metu dekarboksilimas nevyksta, todėl tai yra optimalus metodas siekiant nustatyti natūraliai esančias kanabinoidų rūgštis ir neutralias jų formas augaluose. Fenoliniai junginiai taip pat pasižymi silpnu lakumu ir dėl to prieš GC analizę yra metilinami į labiau lakius junginius, pvz., trimetilsililo darinius. Šiuo metu HPLC metodas yra vienas patikimiausių fenolinių junginių nustatymo metodų. Be to, HPLC suteikia galimybę tuo pačiu metu analizuoti visus fenolinius junginius bei jų darinius ir skilimo produktus. Nepaisant to, kad fenolinių

junginių analizei naudojami modernūs chromatografiniai metodai, tradiciniai spektrofotometriniai metodai taip pat yra naudojami dėl nesudėtingos įrangos ir atlikimo metodikos. [156, 168].

1.7 *Cannabis sativa* L. panaudojimas pramonėje

Cannabis sativa L. yra universalus augalas, kuris per trumpą laikotarpį sukaupia didelį biomasės kiekį. Kanapių stiebai naudojami kaip medžio pakaitalas, o pluoštas – tekstilės, statybų ir automobilių pramonei. Kanapių sėklos naudojamos maistinio aliejaus gamybai, o lapai ir žiedai yra bioaktyviųjų komponentų šaltinis [169].

Šiuo metu žinoma apie 3000 EO, iš kurių 300 yra komerciškai naudojami maisto, farmacijos, agronomijos, higienos, kosmetikos ir parfumerijos pramonėse. Kanapių EO panaudojimas pramonėje yra labai įvairus: kuriami maisto produktai turintys teigiamos įtakos sveikatai (angl. *nutraceuticals*); yra kosmetikos priemonių ir vaistų sudedamųjų dalių komponentai; taikomi vabzdžių ir kenkėjų kontrolės tikslais ekologiniame žemės ūkyje [170]. EO pasižymi antiseptiniu, baktericidiniu, virucidiniu, fungicidiniu, farmakologiniu poveikiu bei stipriu aromatu. Dėl to yra naudojami kaip antimikrobinė, analgezinė, sedacinė, priešūždegiminė, spazmolitinė ir lokaliai anestezuojanti priemonė [171]. Aromaterapija yra alternatyvios medicinos kryptis, kurioje EO naudojami terapiniais tikslais ir turi įtakos asmens sveikatai ir nuotaikai [172]. Maisto pramonėje EO naudojami kaip maisto priedai: kvapiosios medžiagos ar antibakteriniai konservantai. Nustatyta, kad EO (0,2–10 $\mu\text{l ml}^{-1}$) geba slopinti maisto patogenų: *Salmonella* spp., *E. coli* O157:H7, *Listeria monocytogenes*, *Shigella dysenteria*, *Bacillus cereus* ir *Staphylococcus aureus* gamybą. Gram-teigiamos bakterijos įprastai yra jautrenės EO poveikiui nei gram-neigiamos. Terpenai pasižymi silpnu toksiškumu – LD₅₀ – 5000 mg/kg kūno svorio. Natūralios kilmės EO yra pripažinti saugiais (GRAS, angl. *generally recognised as safe*) [5]. ES registruoti EO, nekeliantys pavojaus žmogaus sveikatai, yra: limonenas, α -felandrenas, β -kariofilenas, mircenas, β -ocimenas, geraniolis, α -terpineolis, nerolidolis, fitolis, terpineolis, β -bisabolenas, cinamaldehydas, citralis, p-cimenas, eugenolis, mentolis, timolis, linalolis, vanilinas ir daugelis kt. [173]. Stiprus antibakterinis poveikis prieš patogenines maisto bakterijas pasireiškia dėl kanapėse esančių fenolinių junginių. Fenolinių junginių hidroksilo grupės (-OH) sukelia slopinamąjį poveikį, kadangi šios grupės gali sąveikauti su bakterijų ląstelių membranomis ir sutrikdyti jų veiklą [174].

Itin didelis dėmesys skiriamas kanabinoidams, kurie neveikia psichikos (CBD, CBG, CBC, Δ^9 -THCV ir kt.) bei pasižymi stipriu farmakologiniu poveikiu. Dėl šios priežasties kanabinoidai laikomi perspektyviais natūraliais junginiais gydant epilepsiją, depresiją, anoreksiją, vėžį ir kt. ligas bei mažinant skausmo pojūtį [169]. Siekiant padidinti šių kanabinoidų kiekį augalinėje žaliavoje yra vykdoma nuolatinė *C. sativa* veislių selekcija [14]. Išsamiausiai tiriamas CBD, kadangi jis pasižymi stipriausiu teigiamu farmakologiniu aktyvumu, yra netoksiškas ir saugus vartoti [175]. CBD taip pat gali blokuoti opioidų receptorių ir gali būti naudojamas priklausomybių gydymui [176]. Terpenai (pvz., mircenas, terpinolenas, kariofilenas, humulenolinas, kariofileno oksidas ir kt.) kartu su CBD veikia sinergiškai ir pagerina terapines produktų savybes, sumažinant nepageidaujamo Δ^9 -THC kiekį. Dėl to, šiuo metu visame pasaulyje susidomėjimas kanapių bioaktyviųjų junginių ekstraktais yra didelis, dėl jų panaudojimo įvairiose pramonės srityse [61].

2. Tyrimo objektai ir metodai

2.1 Tyrimo objektai

Tyrimo objektas – pluoštinių kanapių (*Cannabis sativa* L.) lapai. Žaliava gauta iš oficialių ekologiškų pluoštinių kanapių augintojų įmonės „Agropro“. Pluoštinės kanapės užaugintos 2017 m. žemės ūkio tyrimų institute Latvijoje – „Institute of Agroresources and Economics“. Siekiant nustatyti veislės įtaką kokybiniams ir kiekybiniams bioaktyviųjų junginių rodikliams, tyrimai buvo atlikti su 11 skirtingų *C. sativa* veislių. Eksperimentams atlikti pasirinktos oficialiai ES ir Kanadoje registruotos veislės: ‘CFX-1’, ‘CFX-2’, ‘CRS-1’, ‘Katani’, ‘Adželveiši’, ‘Picolo’, ‘Grandi’ ir ‘Finola’ (žr. 1 ir 2 priedus). Taip pat tyrimams buvo naudota ES neregistruota latviškos kilmės ‘Pūrini’ veislė. Be to, buvo analizuojamos naujai Latvijoje išvestos ‘Regina’ ir ‘Sidrabi’ veislės. Visų šių tirtų veislių vegetacijos periodas buvo vienodas, jų derlius nuimtas subrandinus sėklas.

Kanapių vegetacijos periodas tęsiasi 120 dienų ir jo metu smarkiai kinta cheminių junginių sudėtis. Siekiant įvertinti skirtingo vegetacijos periodo įtaką kokybiniams ir kiekybiniams bioaktyviųjų junginių rodikliams, pasirinkta oficialiai ES registruota ir plačiai auginama pluoštinių kanapių veislė ‘Finola’. Tyrimo objektas – pluoštinių kanapių (*Cannabis sativa* L.) lapai ir žiedai. Žaliava surinkta 2018 m. skirtingo vegetacijos periodo metu:

- prieš žydėjimą (birželio 19 d.), kai augalų viršutinių lapų šluotelėse buvo randami butonai ar jų užuomazgos;
- žydėjimo metu (liepos 1 d.), kai išsiskleidė apie 50 % žiedų šluotelėse (žr. 11 pav.);
- po žydėjimo (liepos 24 d.), kai apatinėse šluotelėse formavosi sėklos.



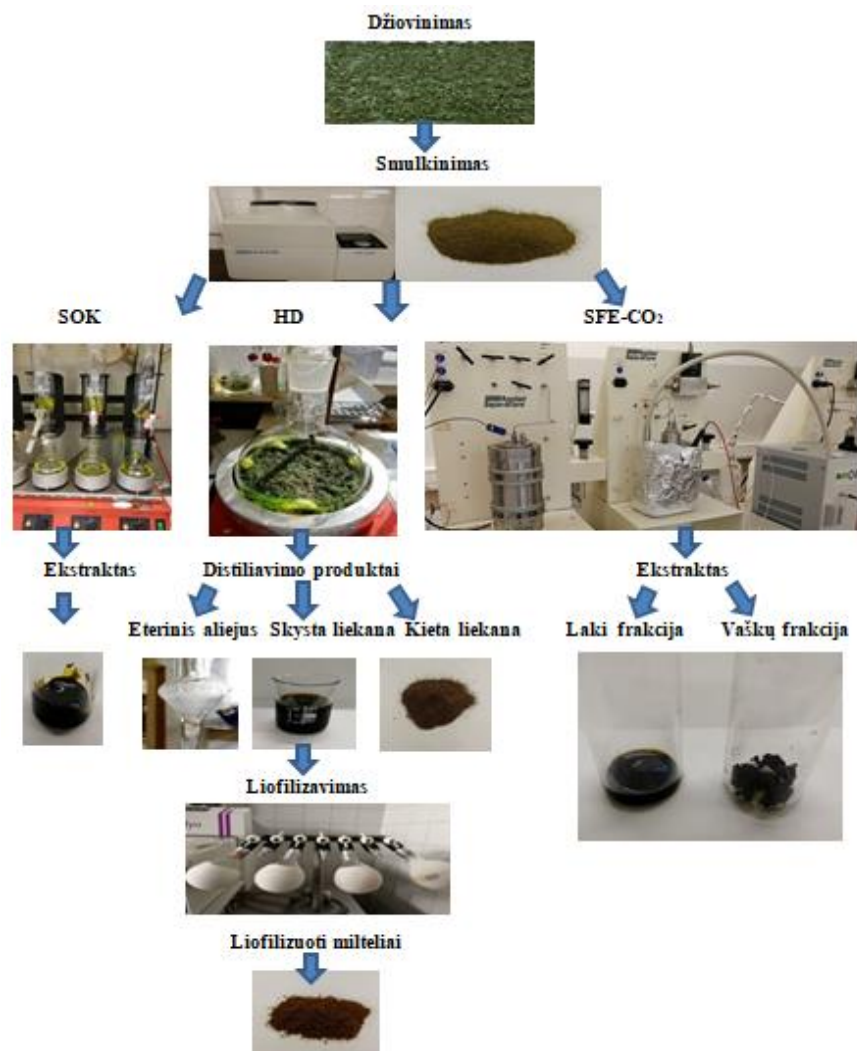
11 pav. Pluoštinės kanapės (*Cannabis sativa* L.) žydėjimo metu

Pluoštinių kanapių žaliava prieš žydėjimą ir žydėjimo metu gauta iš Lietuvos, o po žydėjimo – iš Lietuvos ir Estijos augintojų.

2.2 Mėginių paruošimas

Pluoštinės kanapės išdžiovintos natūraliai 20–25 °C temperatūroje, gerai vėdinamoje patalpoje, vengiant saulėkaitos. Mėginiai džiovinti iki tol, kuomet nustatytas pastovus ir nekintantis jų svoris bei 8–13 % drėgnumas. Pluoštinių kanapių lapai atskirti nuo stiebelių, šaknų ir sėklų bei susmulkinti naudojant laboratorinį cikloninį malūną (Retsch, Haan, Vokietija) iki 1 mm dydžio vienalyčių dalelių. Susmulkinus lapus gaunami miltelių konsistencijos mėginiai, kurie sudėti į hermetiškus indus.

Po SOK ir SFE-CO₂ gauti naudingi ekstraktai ir kieta ekstrakcijos liekana. HD metu išgautas EO, po ekstrakcijos likusi dezodoruota kieta liekana išdžiovinta pramoninėje džiovyklėje su aktyvia ventiliacija 35 °C temperatūroje, o skysta dezodoruota liekana filtruota ir liofilizuota sublimacinėje džiovykloje Zirbus (Zirbus technology, Vokietija) (žr. 12 pav.). Slėgis įrenginyje buvo 0,5 mm Hg. Mėginiai buvo džiovinami nuo 8 iki 10 valandų, -50 °C temperatūroje. Gauti miltelių konsistencijos mėginiai iki analizės buvo laikomi hermetiškuose induose.



12 pav. Mėginių paruošimo schema

2.4.1 Ekstrakcijų metodai ir bandinių paruošimas analizei

2.4.1.1 Tradicinė hidrodistiliacijos (HD) ekstrakcija

EO išskirtas HD būdu *Clevenger* tipo aparatu iš 100 g susmulkintų kanapių lapų pagal (AOAC) metodiką, naudojant 1,5 l distiliuoto vandens ir ekstrakcija vykdoma 3 val. [177]. Išskirto EO tikslus kiekis išmatuojamas, surenkamas ir iki analizės laikomas $-18\text{ }^{\circ}\text{C}$ temperatūroje, sandariai uždarytuose stikliniuose buteliukuose. Bandymas atliktas trimis pakartojimais. 5 mg EO ištirpinama 1 ml pentano, turinčio 0,2 % vidinio standarto (IS) dekanas ($\text{C}_{10}\text{H}_{22}$), gaunant 0,5 % koncentracijos tirpalą, kurio kiekybinė bei kokybinė sudėtis tirta GC-FID ir GC-TOF/MS metodais.

2.4.1.2 Tradicinė Soksleto (SOK) ekstrakcija

SOK ekstrakcijai atlikti imta 3 g smulkintų kanapių lapų. SOK ekstrakcija atlikta remiantis standartine (AOAC) metodika naudojant 150 ml tirpiklio ir ekstrahuojant 6 val. automatiniam ekstraktoriuje (Behr Labor-Technik, Düsseldorf, Vokietija) [177]. Ekstrakcijai buvo naudotas heksano tirpiklis, kuris vėliau pašalintas vakuuminio rotaciniu garintuvu (Biuchilabortechnik AG, Konztanz, Šveicarija) esant $40\text{ }^{\circ}\text{C}$ temperatūrai. Bandymas atliktas trimis pakartojimais.

2.4.1.3 Didelio slėgio superkritinių skysčių ekstrakcija anglies dvideginiu (SFE- CO_2)

Ekstrakcija atlikta „Helix“ ekstrakcijos sistema (Applied Separation, Allen-town, PA, USA), naudojant 99,9 % grynumo CO_2 (Gaschema, Jonava, Lietuva) dujas. Kiekvienai ekstrakcijai atlikti buvo imta 80 g smulkintų kanapių lapų. Mėginys buvo patalpintas į 500 cm^3 celę. CO_2 dujų srautas, tekantis sistemoje buvo išmatuotas elektroniniu srauto matuokliu standartiniais litrais per minutę (SL/min) standartinėmis sąlygomis ($\text{PCO}_2 = 100\text{ kPa}$, $\text{TCO}_2 = 20\text{ }^{\circ}\text{C}$, $\rho_{\text{CO}_2} = 0,0018\text{ g/ml}$). Procesas susidėjo iš statinės ir dinaminės fazių. Statinė fazė vyko 30 min, o dinaminė – 4 val.

Frakcionavimas naudojant du separatorius (S_1 ir S_2) buvo vykdomas šiomis sąlygomis: slėgis – 45 MPa , temperatūra – $60\text{ }^{\circ}\text{C}$, laikas – 4 val. Pirmajame separatoriuje (S_1) palaikomas 7 MPa slėgis ir skirtinga aušinimo temperatūra ($-30\text{--}0\text{ }^{\circ}\text{C}$), dėl to atskiriami vašku, o lakieji komponentai surenkami antrajame separatoriuje (S_2). Tomis pačiomis sąlygomis (temperatūra – $60\text{ }^{\circ}\text{C}$, slėgis – 45 MPa , laikas – 4 val.) atlikta ekstrakcija be frakcionavimo ir šaldymo naudojant tik vieną separatorių, kuriame surenkamas bendras vašku ir lakiųjų komponentų ekstraktas. Siekiant padidinti junginių ekstrahavimo poliškumą SFE- CO_2 ekstrakcijos metu buvo įvesta 5 % etanolio (5 % EtOH), kurio srautas – $0,228\text{ ml/min}$. Dėl to atlikta SFE- CO_2 ekstrakcija naudojant gryną CO_2 (0 % EtOH) bei įvedus 5 % EtOH. Išeigai nustatyti prieš ekstrakciją buvo pasveriamas tuščias indelis, o po ekstrakcijos pasveriamas su mėginiu. Ekstraktai buvo laikomi tamsaus stiklo buteliukuose $-18\text{ }^{\circ}\text{C}$ temperatūroje. Analizė atlikta trimis pakartojimais. 5 mg ekstrakto ištirpinta 1 ml pentano gaunant 0,5 % koncentracijos tirpalą, kurio kiekybinė ir kokybinė sudėtis tirta GC-FID ir GC-TOF/MS metodais. 1 mg ekstrakto ištirpintas 1 ml metanolio gaunant 0,1 % koncentracijos tirpalą, kurio sudėtis tirta HPLC-UV/Vis.

2.4.1.4 Kanabinoidų ekstrakcija

Pasveriami 500 mg susmulkintų kanapių lapų ir ekstrahuojama su 5 ml metanolio-chloroformo mišiniu (9:1). Bandiniai 15 min. veikami ultragarso vonelėje „Ultrasonics“ (Astra-Son™, JAV) ir homogenizuojami mėgintuvėlių maišyklėje „Vortex-Vib“ (Hofer Pharmacia Biotech Inc., JAV). Skystoji dalis atskiriama centrifūguojant 14000 aps/min. 20 min., iš jos paimama 100 µl ir praskiedžiama iki 1 ml metanolio. Gauta tirpalo 100 µl dar kartą praskiedžiama iki 1 ml metanolio. Gauta 1 mg/ml koncentracija tirta HPLC-UV/Vis metodu naudojant Δ⁹-THC, CBD ir Δ⁹-THCA bei CBDA standartinius tirpalus. Bandytas atliktas trimis pakartojimais.

2.4.2 Analizės metodai

2.4.2.1 Dujų chromatografija su liepsnos jonizacijos detektoriumi (GC-FID)

Kiekybinė analizė atlikta Perkin Elmer Clarus500 dujų chromatografu (GC) (Shelton, USA) su liepsnos jonizacijos detektoriumi (FID) ir Elite-5 (5 % difenilo, 95 % dimetilpolisiloksano) lydyto silicio kapiliarine kolonėle (30 m ilgis; 0,25 mm skersmuo; 0,25 µm stacionarios fazės sluoksnio storis) (Perkin Elmer, Shelton, USA). Nešančiosios dujos – helis, įleidimo slėgis 15 psi 50 °C temperatūroje, srauto greitis – 1,3 ml/min. Detektoriaus temperatūra – 300 °C, o krosnelės temperatūrinė programa: nuo 50 °C keliant temperatūrą 5 °C/min greičiu iki 280 °C, išlaikant 10 min. Inžektoriaus temperatūra – 260 °C, bandinio įleidimo srauto paskirstymas 1:10. Inžektuojamo bandinio tūris – 1 µl. Lakiųjų junginių sudėtis išreikšta % nuo bendro GC-FID chromatogramos smailių ploto ir apskaičiuoti absoliutūs jų kiekiai mg/kg žaliavos, įvertinant ekstrakto išeią. Analizė atlikta keturiais pakartojimais ir paskaičiuotas standartinis nuokrypis. Pagal formulę (3) apskaičiuojamas lakiųjų junginių *Kováts* sulaikymo indeksas (KI):

$$KI = 100n + 100 \frac{\log RT(x) - \log RT(Cn)}{\log RT(Cn+1) - \log RT(Cn)}; \quad (3)$$

KI – *Kováts* sulaikymo indeksas; *n* – atitinkamo alkano anglies atomų skaičius; *RT(X)* – tiriamo junginio išėjimo laikas nepolinėje Elite-5 kolonėlėje; *RT(Cn)* ir *RT(Cn + 1)* – alkano išeinančio prieš tiriamą junginį ir alkano išeinančio paskui tiriamąjį junginį išėjimo laikai Elite-5 kolonėlėje.

2.4.2.2 Dujų chromatografija ir masių spektrometrija su laiko skriejimo masių analizatoriumi (GC-TOF/MS)

Kokybinė analizė atlikta su išsamiąja dujų chromatografijos GC × GC-TOF/MS LECO Pegasus 4D sistema, susidedančia iš Agilent 7890A GC dujų chromatografo, Gerstel MPS daugiafunkcinio mėginio įleidimo įrenginio (Gerstel GmbH, Mulheim an der Ruhr, Germany), TOF/MS detektoriaus (LECO, St. Joseph, MI, USA) ir dviejų srautų modulatoriaus (Zoex, Houston, TX, USA). Agilent 7890A GC kameroje instaliuotos dvi kolonėlės: nepolinė BPX-5 (30 m ilgis; 0,25 mm skersmuo; 0,25 µm stacionarios fazės sluoksnio storis) (SGE Analytical Science, Australia) ir polinė BPX-50 (2,0 m ilgis; 0,10 mm skersmuo; 0,1 µm stacionarios fazės sluoksnio storis). Pirmosios kolonėlės temperatūrinė programa: nuo 50 °C keliant temperatūrą 5 °C/min greičiu iki 280 °C, išlaikant 10 min. Antrosios kolonėlės temperatūrinė programa: nuo 65 °C keliant temperatūrą 5 °C/min greičiu iki 295 °C. Inžektoriaus temperatūra 280 °C. Nešančios dujos – helis. Inžektuojamo bandinio kiekis

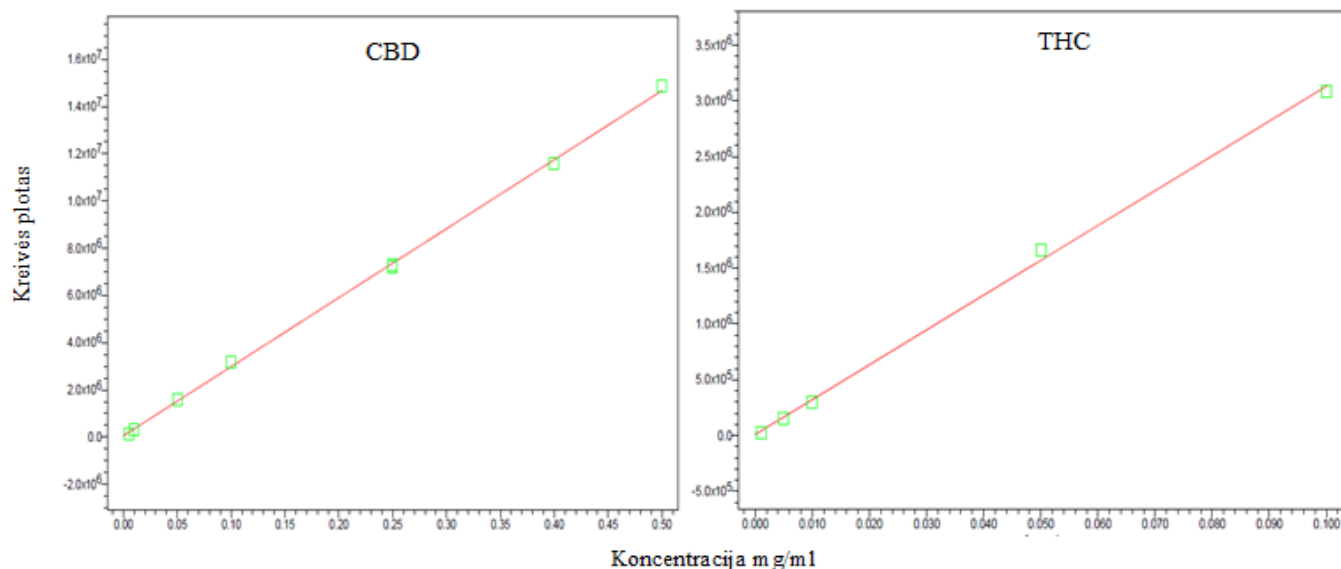
– 1 µl. TOF/MS registravimo greitis 10 spektrų/s. Identifikuojant junginius masių diapazonas – 30-550 m/z vienetų. Detektoriaus įtampa – 1550 V, jonų šaltinio temperatūra – 250 °C, įleidimo srauto paskirstymas 1:20. Duomenys iš GC×GC-TOF/MS sistemos apdorojami su ChromaTOF v.4.22 programine įranga (LECO) naudojant tirpiklio piko integravimo atidėjimo laiką 420 s, signalotriukšmo slenkstį – 50 ir esant minimaliam masių spektro atitikimui ne mažesniai kaip 750. Analizė atlikta trimis pakartojimais.

EO ir SFE-CO₂ ekstraktų lakieji aromato junginiai bei kanabinoidai identifikuoti apskaičiuojant (pagal C₇ – C₃₀ sočiųjų alkanų standartą) jų KI sulaikymo indeksus, gautus su nepoline *Elite-5* kolonėle bei lyginant juos su publikuotais literatūroje [178]. O gauti GC-TOF/MS masių spektrai palyginti su spektrais esančiais Adams, NIST, Mainlib, ir Replib masių spektrų bibliotekose. Junginys identifikuotas tik esant geram KI ir MS spektrų suderinamumui, taip pat naudojant kai kurių lakiųjų junginių ir kanabinoidų standartus.

2.4.2.3 Efektyvioji skysčių chromatografija su ultravioletinių ir matomos srities spindulių sugerties detektoriumi (HPLC-UV/Vis)

Kanabinoidų kokybinė ir kiekybinė analizė atlikta naudojant Waters 2695 efektyviosios skysčių chromatografijos sistemą (HPLC) (Milford, MA, USA), kurią sudaro automatinis bandinių įleidimo mechanizmas, aušintuvas, vakuuminis degazatorius ir kolonėlių termostatas. Junginių skirstymas atliekamas YMC PRO C18 (150 x 4 mm; S-3µm) RP analizinėje kolonėlėje palaikant 30 °C temperatūrą CTO-20AC kolonėlės termostate. Automatinio bandinių įleidimo mechanizmu buvo įleidžiama 10 µl (1 mg/ml) bandinio (arba standarto). Skirstymas atliekamas naudojant vandenį ir acetonitrilą (1:4) 20 min. Strauto greitis palaikomas 0,8 ml/min. Kanabinoidai CBD ir THC buvo nustatyti esant 225 nm, o CBDA ir THCA – 300 nm bangos ilgiui, naudojant ultravioletinių ir matomos srities spindulių sugerties (UV/Vis) diodų matricos detektorių (DAD) Waters 2487 (Milford, MA, JAV). Duomenų vertinimas buvo atliktas naudojant *Clarity* programinę įrangą. Kanabinoidų kiekybinis įvertinimas atliktas pagal individualių etaloninių standartų kalibracinių kreivių tiesinės priklausomybės lygtis: CBD ($y = 29225260,07x + 59671,42$; $R^2 = 0,999231$); CBDA ($y = 7030802,67x - 14581,18$, $R^2 = 0,998902$); THC ($y = 31198966,95x + 10607,48$; $R^2 = 0,998545$); THCA ($y = 1906250,02x - 2597,44$; $R^2 = 0,992557$) (žr. 14 pav). Junginių sudėtis išreikšta % nuo bendro HPLC-UV/Vis chromatogramos smailių ploto. Chromatografinių smailių identifikavimas atliktas pagal analitės bei standartinių junginių eliucijos trukmės ir UV absorbcijos spektrų sutapimą. Analizė atlikta trimis pakartojimais.

Prieš analizę 0,01 g ($\pm 0,0001$) homogeninio kanapių ekstrakto praskiedžiama 1 ml metanolio (HPLC klasės). Tirpalas buvo ultragarsuojamas 5 min. ir maišomas 10 s. Mėginiai prieš HPLC analizę buvo centrifuguoti esant 4800 aps./min. bei toliau praskiedžiami metanoliumi iki galutinės koncentracijos 1 mg/ml.



14 pav. Kanabidiolio (CBD) ir tetrahidrokanabinolio (THC) kalibracinės kreivės

2.5 Antioksidacinių savybių įvertinimas

2.5.1 Ekstraktų antioksidacinių savybių įvertinimas

2.5.1.1 Bendras fenolinių junginių kiekis (TPC)

Bendras fenolinių junginių kiekis (TPC) nustatytas pagal O. Folin'o ir V. Ciocalteu metodinį aprašymą naudojant *Folin–Ciocalteu* (Sigma–Aldrich, Buchs, Šveicarija) reagentą [179]. 150 μ l bandinio arba distiliuoto vandens (kontrolinis bandinys) sumaišoma su 750 μ l *Folin–Ciocalteu* reagentu (2M), prieš tai šį reagentą praskiedus distiliuotu vandeniu santykiu 1:9, po 3 min. reakcijos įpilama 600 μ l Na_2CO_3 tirpalo (75 g/l). Paruošti bandiniai laikomi tamsoje 120 min. Absorbicija matuojama esant 760 nm bangos ilgiui. Naudojant etaloninį galo rūgšties tirpalą, pagal gautus rezultatus buvo apskaičiuota kalibracinė tiesinės priklausomybės lygtis ($y = 0,0104x + 0,0185$; $R^2 = 0,9987$). Bandymas atliktas penkiais pakartojimais. TPC išreikštas galo rūgšties ekvivalentais (mg GAE/g ekstrakto) ir apskaičiuojamas pagal (4) formulę:

$$C = c * V * m^{-1}; \tag{4}$$

čia C – polifenolių kiekis išreikštas GA ekvivalentais, mg/g; c – GA koncentracija nustatyta pagal kalibravimo kreivę, mg/ml; V – tiriamojo ekstrakto tūris, ml; m – ekstrakcijai paimto mėginio masė, g.

2.5.1.2 ABTS^{•+} laisvųjų radikalų sujungimo metodas

2,2'-azino-bis-3-etilbenziazolin-6-sulfono rūgšties (ABTS^{•+}) laisvųjų radikalų sujungimo geba išmatuojama spektrofotometriškai pagal modifikuotą R. Re ir kt. metodinį aprašymą [180]. Pradžioje paruošiamas PBS tirpalas, kurį ruošiant 1 l matavimo kolboje ištirpinama 8,18 g NaCl, 0,27 g KH_2PO_4 , 1,42 g Na_2HPO_4 ir 0,15 g KCl. Gautu tirpalo pH reikšmė – 7,4. Eksperimentui

atlikti paruošiami du tirpalai. Pradinis ABTS⁺⁺ tirpalas ruošiamas 0,0549 g ABTS⁺⁺ reagento ištirpinant 50 ml PBS tirpale ir 0,0038 g K₂S₂O₈ druskos ištirpinant 200 µl distiliuoto vandens. Šie du pradiniai tirpalai yra sumaišomi ir laikomi tamsoje, kambario temperatūroje apie 15–16 valandų. Darbinis ABTS⁺⁺ tirpalas praskiedžiamas PBS tirpalu, kad būtų gauta absorbciją 0,700 ± 0,005 optinio tankio vienetų, kai bangos ilgis 734 nm. 25 µl bandinio arba distiliuoto vandens (kontrolinis bandinys) sumaišoma su 1500 µl darbinio ABTS⁺⁺ tirpalo. Paruošti bandiniai laikomi tamsoje 120 min. Absorbcija matuojama esant 734 nm bangos ilgiui. Kalibracinės kreivės lygtis: $y = 0,0638x - 1,3042$; $R^2 = 0,9977$. Kalibracinė kreivė buvo sudaryta panaudojus etaloninius įvairių koncentracijų Trolokso (C₁₄H₁₈O₄ M_r = 250,29 g/mol) tirpalus. Bandymas atliktas penkiais pakartojimais. Antioksidacinis aktyvumas išreikštas Trolokso ekvivalentais (mg TE/g ekstrakto). Laisvųjų radikalų sujungimas (%) apskaičiuotas pagal (5) formulę:

$$I = \frac{(AB-AA)}{AB} * 100; \quad (5)$$

čia I – laisvųjų radikalų sujungimo aktyvumas, %; AB – ABTS⁺⁺ reakcijos sistemos optinis tankis; AA – sistemos su antioksidantu optinis tankis.

2.5.1.3 Deguonies radikalų absorbcijos pajėgumo nustatymas (ORAC)

ORAC tyrimas atliktas pagal R. L. Prior'o ir kt. pasiūlytą metodiką [181]. Eksperimentas pagrįstas peroksilo radikalų surišimu, kurį generuoja azobis (AAPH). Taip užkertamas kelias fluoresceino skilimui. Antioksidacinį mėginio potencialą parodo stabilesnis fluorescentinis signalas. Vandeniui ekstraktams paruošti 10 mg ekstrakto ištirpinama 1 ml vandens, o lipofiliniams ekstraktams – 10 mg ekstrakto ištirpinama 1 ml acetono-metanolio tirpalo (1:9) ir praskiedžiama iki reikiamos koncentracijos. Į juodą nepermatomą 96 šulinėlių lėkštelę įpilama 25 µl tiriamo bandinio arba distiliuoto vandens/metanolio (kontrolinis bandinys), 150 µl S₃ fluoresceino tirpalo ir inkubuojama 15 min 37 °C temperatūroje. Po inkubavimo pilama 25 µl Azobio (AAPH). Fluorescencija matuojama 120 ciklų (ciklo trukmė 1,1 min.). Fluorescencinis matavimas atliekamas *FLUOstar Omega* tipo spektrofotometru 90 min., 37 °C temperatūroje, esant sužadimui 485 nm ir 520 nm emisijai. Antioksidacinis aktyvumas išreikšiamas Trolokso ekvivalentais (mg TE/g ekstrakto). Kalibracinės kreivės lygtis: $y = 0,1394x - 0,7395$; $R^2 = 0,9926$. Bandymas atliktas šešiais pakartojimais. Po kalibracinės kreivės esantis plotas (AUC) kiekvienam bandiniui apskaičiuojamas integruojant santykinę fluoresceino kreivę. AUC apskaičiuojamas pagal (6) formulę:

$$AUC = 1 + \sum_{i=1}^{i=120} \frac{f_i}{f_0}; \quad (6)$$

čia f_0 – pradinė fluoresceino vertė (0 min); f_i – fluoresceino vertė tam tikrą laiką (i – tąją min).

2.5.2 Žaliavos ir kietosios liekanos antioksidacinių savybių įvertinimas (QUENCHER procedūra)

Kai kurie antioksidaciniu aktyvumu pasižymintys junginiai, esantys augalo matricoje, yra netirpūs vandenyje ir organiniuose tirpikliuose. Dėl šios priežasties, pradinės žaliavos ir kietų ekstraktų liekanų antioksidaciniam potencialui įvertinti yra atliekama antioksidacinio aktyvumo nustatymo

sausoje medžiagoje metodika – QUENCHER. Žaliavos ir kietosios liekanos ekstrakcijų mėginiai maišomi su mikrokristaline celiulioze ir ruošiami skirtingų koncentracijų mišinių skiediniai. Mėginių antioksidacinis aktyvumas (TPC, ABTS^{•+} ir ORAC) tirtas prieš ir po skirtingų ekstrakcijų naudojant QUENCHER procedūrą, kuri pagrįsta oksidacijos-redukcijos reakcija kietos ir skystos fazių paviršiuje. Visi tyrimai buvo atliekami pritaikant tuos pačius metodus, kurie buvo aprašyti nustatant ekstraktų antioksidacinį aktyvumą. TPC antioksidacinis aktyvumas išreiškiamas galo rūgšties ekvivalentais (GAE) – mg GAE/g šviežios medžiagos arba mg GAE/g sausos medžiagos. O ABTS^{•+} ir ORAC antioksidacinis aktyvumas išreiškiamas Trolokso ekvivalentais (TE) – mg TE/g šviežios medžiagos arba mg TE/g sausos medžiagos.

TPC nustatyme į mėgintuvėlius dedama 10 mg pradinio mišinio skiedinio arba 10 mg mikrokristalinės celiuliozės (kontroliniam bandiniui), įpilama 150 µl dist. H₂O ir 750 µl *Folin-Ciocalteu* tirpalo ir po 3 min. reakcijos 600 µl Na₂CO₃. Paruoštas mišinys maišomas 15 s, purtomas tamsoje 120 min. (250 rpm) bei centrifūguojamas 4500 rpm 5 min. Absorbicija matuojama esant 760 nm bangos ilgiui. Naudojant etaloninį galo rūgšties tirpalą, pagal gautus rezultatus buvo apskaičiuota kalibracinė tiesinės priklausomybės lygtis ($y = 0,0121x + 0,0298$; $R^2 = 0,9934$). Bandymas atliktas penkiais pakartojimais.

ABTS^{•+} radikalo surišimo metodui atlikti pasveriami 10 mg pradinio mišinio skiedinio arba mikrokristalinės celiuliozės (kontroliniam bandiniui), įpilama 25 µl metanolio ir 1500 µl ABTS^{•+} tirpalo. Paruoštas mišinys maišomas 15 s, purtomas tamsoje 120 min. (250 rpm), centrifūguojamas 4500 rpm 5 min. Absorbicija matuojama esant 734 nm bangos ilgiui. Naudojant Trolokso tirpalą, pagal gautus rezultatus buvo apskaičiuota kalibracinė tiesinės priklausomybės lygtis ($y = 0,0625x - 2,804$; $R^2 = 0,9971$). Bandymas atliktas penkiais pakartojimais.

ORAC metodui į mėgintuvėlius dedama 10 mg pradinio mišinio skiedinio arba mikrokristalinės celiuliozės (kontroliniam bandiniui), sumaišoma su 150 µl PBS tirpalu ir 900 µl fluoresceinu (S₃ tirpalas). Maišoma 10 s, purtoma 250 rpm 60 min. tamsoje ir centrifūguojama 4500 rpm 5 min. Optiškai skaidrus skystis (175 µl) pipete supilamas juodą nepermatomą 96 šulinėlių lėkštelę. Inkubuojama 15 min., esant 37 °C temperatūrai. Po inkubacijos su daugiakanale pipete įpilame 25 µl AAPH. Fluorescencija matuojama 150 ciklų (ciklo trukmė 1,1 min). Naudojant Trolokso tirpalą, pagal gautus rezultatus buvo apskaičiuota kalibracinė tiesinės priklausomybės lygtis ($y = 0,1212x + 4,1924$; $R^2 = 0,9671$). Bandymas atliktas šešiais pakartojimais.

2.6 Rezultatų analizė

Eksperimentiniai duomenys buvo apdorojami naudojant statistinį duomenų analizės paketą Microsoft Office Excel (Microsoft, JAV) ir STATISTICA 13. Atlikta vieno veiksnio dispersinė analizė (ANOVA), skirtumų tarp vidurkių statistinis patikimumas įvertintas Fišerio LSD testu ($p < 0,05$). Visi kiekybinio nustatymo eksperimentai kartoti tris ar daugiau kartų, o rezultatai išreikšti vidurkiais ± standartiniu nuokrypiu.

3. Tyrimų rezultatai ir jų aptarimas

3.1 Žaliavos kokybinis įvertinimas

Prieš atliekant tyrimus svarbu įvertinti žaliavos kokybę. Vienas pagrindinių kokybės parametrų yra drėgmės ir sausųjų medžiagų kiekis. Nuo drėgmės kiekio priklauso žaliavos išsilaikymo kokybė. Pernelyg didelis drėgmės kiekis gali lemti bakterijų ir pelėsinų grybų vystymąsi bei cheminius gedimo procesus, kadangi vyksta fermentinės reakcijos. Jusliškai įvertinus nepastebėta mikroorganizmų ar fermentinių reakcijų sukulto gedimo proceso veiklos padarinių. Natūraliai išdžiovinti kanapių lapai buvo žalios, o žiedai – gelsvos spalvos, be pašalinio kvapo. Taip pat nustatytas likutinis drėgmės kiekis augalinėje žaliavoje ją išdžiovinus. Reglamentuojama, kad išdžiovintoje pluoštinių kanapių žaliavoje drėgmės kiekis neturi viršyti 15 % [15]. Atlikto tyrimo metu nustatyta, kad drėgmės kiekis neviršijo reglamentuojamos normos (žr. 3 ir 4 lent.), dėl to ši žaliava buvo tinkama tolesnėms analizėms.

3 lentelė. Skirtingų kanapių veislių drėgmės ir sausųjų medžiagų kiekis, %

Veislė	Drėgmės kiekis	Sausųjų medžiagų kiekis
CFX-1	8,97 ± 0,12 ^f	91,04 ± 0,12 ^b
CFX-2	8,60 ± 0,02 ^e	91,41 ± 0,02 ^c
CRS-1	9,63 ± 0,03 ^g	90,37 ± 0,03 ^a
Regina	8,01 ± 0,01 ^c	92,00 ± 0,01 ^e
Katani	8,05 ± 0,04 ^{cd}	91,95 ± 0,04 ^{de}
Adzelveiši	8,20 ± 0,08 ^{cd}	91,81 ± 0,08 ^{de}
Finola	7,10 ± 0,08 ^a	92,91 ± 0,08 ^g
Piccolo	8,28 ± 0,11 ^d	91,73 ± 0,11 ^d
Grandi	8,00 ± 0,12 ^c	92,01 ± 0,12 ^e
Sidrabi	7,52 ± 0,16 ^b	92,49 ± 0,16 ^f
Pūrini	7,72 ± 0,19 ^b	92,29 ± 0,19 ^f

^{a,b} – reikšmės stulpeliuose pažymėtos tomis pačiomis mažosiomis raidėmis pagal Fišerio LSD testą ($P < 0,05$) iš esmės nesiskiria

Statistiškai reikšmingai didžiausias drėgmės kiekis nustatytas ‘CRS-1’, o mažiausias – ‘Finola’ veislių kanapių žaliavoje, atitinkamai 9,63 ir 7,10 %. Sausųjų medžiagų kiekio rezultatai yra atvirkščiai proporcingi drėgmės kiekio rezultatams, dėl to didžiausias sausųjų medžiagų kiekis aptiktas ‘Finola’, o mažiausias – ‘CRS-1’ veislių kanapių žaliavoje, atitinkamai 92,91 ir 90,37 % (žr. 3 lent.)

4 lentelė. ‘Finola’ skirtingo vegetacijos periodo drėgmės ir sausųjų medžiagų kiekis, %

Vegetacijos periodas	Augalinė žaliava	Drėgmės kiekis	Sausųjų medžiagų kiekis
Prieš žydėjimą	Džiovinti lapai	6,24 ± 0,10 ^a	93,76 ± 0,10 ^d
Žydėjimo metu	Džiovinti lapai	9,41 ± 0,25 ^b	90,59 ± 0,25 ^c
	Džiovinti žiedai	11,24 ± 0,09 ^c	88,77 ± 0,09 ^b
Po žydėjimo (Estija)	Džiovinti lapai	13,61 ± 0,26 ^d	86,40 ± 0,26 ^a
Po žydėjimo (Lietuva)	Džiovinti lapai	11,57 ± 0,04 ^c	88,44 ± 0,04 ^b

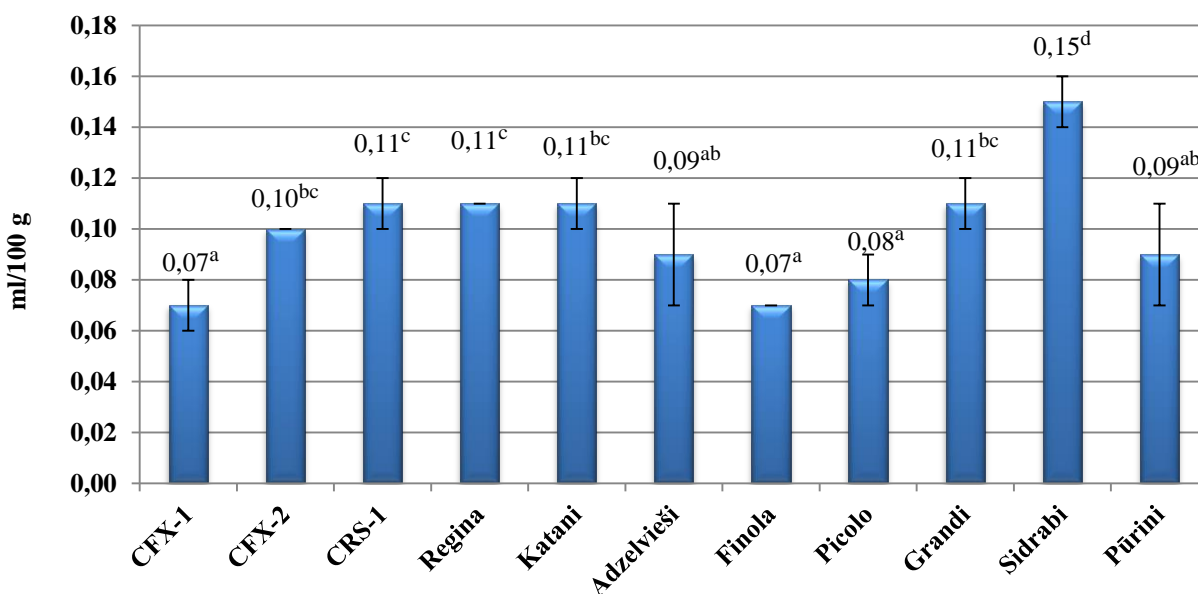
^{a,b} – reikšmės stulpeliuose pažymėtos tomis pačiomis mažosiomis raidėmis pagal Fišerio LSD testą ($P < 0,05$) iš esmės nesiskiria

Skirtingo vegetacijos periodo ‘Finola’ veislės pluoštinių kanapių žaliavoje statistiškai reikšmingai didžiausias drėgmės kiekis nustatytas po žydėjimo (Estija), o mažiausias – prieš žydėjimą, atitinkamai 13,61 ir 6,24 %. Vadinas, didžiausias sausųjų medžiagų kiekis aptiktas prieš žydėjimą,

o mažiausias – po žydėjimo (Estija), atitinkamai 93,76 ir 86,40 % (žr. 4 lent.). S. Amaducci ir kt. nustatė, kad prasidėjus žydėjimo periodui augalai sukaupia mažiau sausųjų medžiagų [182]. Atlikto eksperimento rezultatai parodė tą pačią tendenciją, kadangi mažiausias sausųjų medžiagų kiekis buvo nustatytas pluoštinių kanapių žaliavoje po žydėjimo.

3.2 Eterinių aliejų (EO), išskirtų tradiciniu hidrodistiliacijos (HD) metodu, kiekybinė ir kokybinė analizė

Atlikus *Cannabis sativa* L. 11-os skirtingų veislių HD iš 100 g džiovintų susmulkintų lapų, gauti EO komponentai buvo analizuojami kiekybiškai ir kokybiškai. Tyrimo rezultatai parodė, kad pluoštinių kanapių lapai sukaupė EO nuo 0,07 iki 0,15 ml/100 g sausos medžiagos (S.M). Statistiškai reikšmingai didžiausią EO kiekį sukaupė ‘Sidrabi’, o mažiausią – ‘CFX-1’ ir ‘Finola’ veislių pluoštinės kanapės (žr. 14 pav). A. Bertoli ir kt. nustatė kiek didesnę EO kiekį pluoštinių kanapių lapuose ir žieduose, kuris sudarė nuo 0,10 iki 0,25 ml/100 g priklausomai nuo veislės. Šiame mokslininkų tyrime didžiausią EO kiekį sukaupė ‘Carmagnola’, o mažiausią – ‘C.S’ veislių pluoštinės kanapės [183]. Šie EO kiekio skirtumai gali būti paaiškinti tuo, jog aprašomo tyrimo autoriai analizavo kitokias pluoštinių kanapių veisles. Lyginant literatūros duomenis su gautais eksperimento rezultatais, galima teigti, kad ne tik veislė, tačiau ir auginimo, žaliavos laikymo bei analizės atlikimo sąlygos turi įtakos EO išėigai ir sudėčiai.

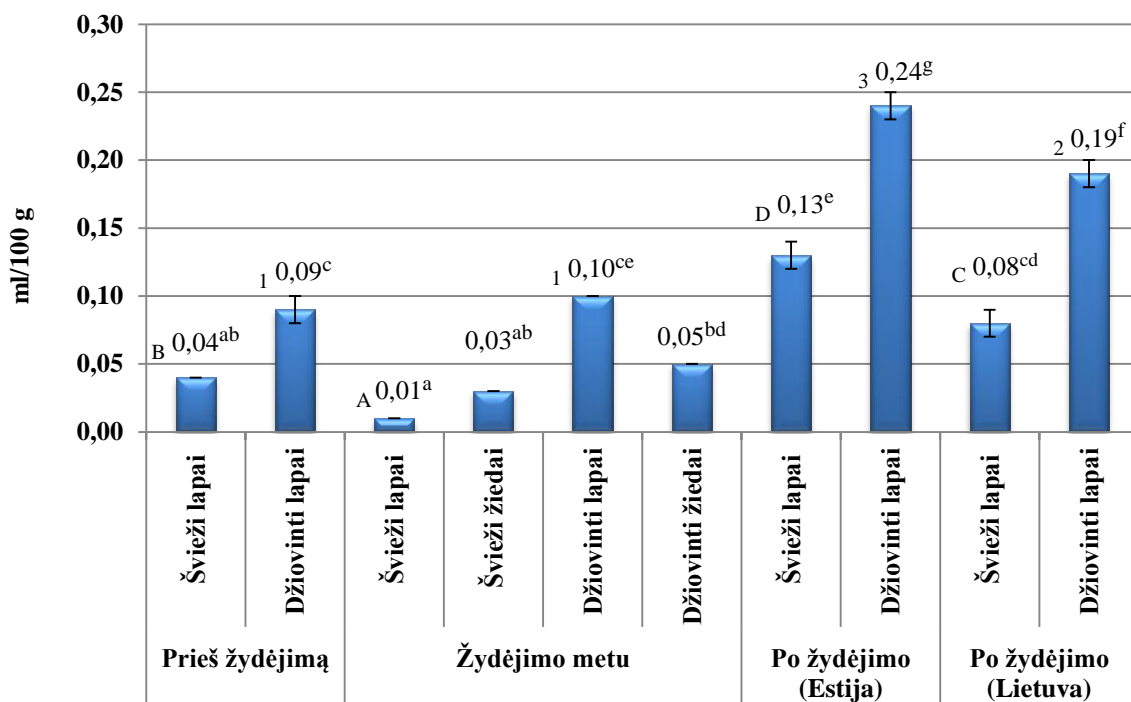


15 pav. Skirtingų kanapių veislių eterinio aliejaus (EO) kiekis, ml/100 g S.M

^{a,b} – reikšmės stulpeliuose pažymėtos tomis pačiomis mažosiomis raidėmis pagal Fišerio LSD testą ($P < 0,05$) iš esmės nesiskiria

Tokiomis pačiomis sąlygomis buvo atlikta ‘Finola’ veislės skirtingo vegetacijos periodo EO kiekybinė ir kokybinė analizė. Analizėms atlikti naudoti švieži ir džiovinti lapai bei švieži ir džiovinti žiedai. Skirtingo vegetacijos periodo metu EO kiekis priklausomai nuo anatominės augalo dalies (lapai ar žiedai) svyravo nuo 0,01 iki 0,24 ml/100 g šviežios arba sausos medžiagos (žr.

15 pav). Vegetacijos periodas turėjo statistiškai reikšminės įtakos EO kiekiui. Kelios statistinės analizės buvo atliktos siekiant palyginti drauge ir individualiai šviežių ir džiovintų lapų EO kiekį skirtingu vegetacijos laikotarpiu. Statistiškai reikšmingai didžiausia EO koncentracija nustatyta po žydėjimo (Estija), jo išėiga šviežiuose lapuose buvo 0,13, o džiovintuose – 0,24 ml/100 g. Nepaisant to, gerokai mažesnis EO kiekis rastas lietuviškoje žaliavoje po žydėjimo (Lietuva). Šviežiuose lapuose EO išėiga buvo mažesnė 1,6 karto, o džiovintuose lapuose – 1,3 karto lyginant su estiška žaliava. Statistiškai reikšmingai mažiausias EO kiekis šviežiuose lapuose nustatytas žydėjimo periodo metu, atitinkamai 0,01 ml/100 g, o džiovintuose lapuose – prieš žydėjimą ir žydėjimo metu, atitinkamai 0,09 ir 0,10 ml/100 g. EO kiekis tiek šviežiuose, tiek džiovintuose lapuose lyginant du vegetacijos periodus, t. y. prieš žydėjimą ir žydėjimo metu buvo panašus ir statistiškai reikšmingai nesiskyrė. Be to, žydėjimo periodo metu tarp šviežių lapų ir šviežių žiedų taip pat nebuvo nustatytas statistiškai reikšmingas skirtumas. Kita vertus, žydėjimo metu džiovinti lapai sukauė statistiškai reikšmingai didesnį EO kiekį (0,10 ml/100 g) nei džiovinti žiedai (0,05 ml/100 g).



16 pav. 'Finola' skirtingo vegetacijos periodo eterinio aliejaus (EO) kiekis, ml/100 g*

*šviežiems lapams ir žiedams šviežioje medžiagoje, džiovintiems lapams ir žiedams sausoje medžiagoje
^{a,b} – reikšmės stulpeliuose tarp augalinės žaliavos ir vegetacijos periodo pažymėtos tomis pačiomis mažosiomis raidėmis pagal Fišerio LSD testą ($P < 0,05$) iš esmės nesiskiria
^{A,B} – reikšmės stulpeliuose tarp šviežių lapų bei vegetacijos periodo pažymėtos tomis pačiomis didžiosiomis raidėmis pagal Fišerio LSD testą ($P < 0,05$) iš esmės nesiskiria
^{1,2} – reikšmės stulpeliuose tarp džiovintų lapų bei vegetacijos periodo pažymėtos tuo pačiu skaičiumi pagal Fišerio LSD testą ($P < 0,05$) iš esmės nesiskiria

Šie EO kiekio skirtumai vegetacijos periodo metu gali priklausyti nuo vietovės, kurioje augalai auginami bei gali būti susiję su sezoniniais pokyčiais, kurie turi įtakos cheminei sudėčiai. J. A. McGimpsey ir kt. ištyrė, kad didžiausias EO ir fenolinių junginių kiekis sukaupiamas praėjus žydėjimo periodui [184].

HD metu gauto EO cheminė sudėtis skiriasi priklausomai nuo veislės ir vegetacijos periodo, dėl to buvo atlikta detali kiekybinė ir kokybinė analizė GC-FID bei GC-TOF/MS metodais ir identifikuoti visi lakieji aromato komponentai, atitinkamai 114 ir 108 junginiai (žr. 3 ir 4 priedus). Statistiškai buvo vertinami tik tie komponentai, kurių koncentracija EO buvo ne mažesnė kaip 1 %. Skirtingų veislių pluoštinėse kanapėse identifikuoti 24 pagrindiniai komponentai: α -pinenas (iki 6,08 %), β -pinenas (0,03–2,31 %), mircenas (0,16–5,72 %), limonenas (0,09–1,22 %), E- β -ocimenas (0,13–1,08 %), terpinolenas (0,14–1,42 %), E-kariofilenas (21,94–33,20 %), E- α -bergamotenas (1,52–2,85 %), E- β -farnesenas (1,89–3,60%), α -humulenenas (6,38–9,96 %), β -selinenas (2,69–4,44 %), α -selinenas (1,94–2,66 %), β -bisabolenas (iki 1,15 %), E-nerolidolis (0,69–1,23 %), kariofileno oksidas (9,83–17,48 %), guajolis (iki 2,99 %), humuleno epoksidai II (2,22–4,32 %), 10-epi- γ -eudesmolis (0,35–2,57 %), γ -eudesmolis (0,11–1,26 %), kariofila-4(12),8(13)-dien-5 β -olis (0,10–1,51 %), β -eudesmolis (0,05–1,71 %), β -bisabololis (0,08–2,41 %), α -bisabololis (0,03–1,95%) ir CBD (1,60–5,17 %) (žr. 5 lent.). Visos 11 veislių pasižymėjo panašia kokybine sudėtimi, tačiau su tam tikrais kiekybiniais skirtumais. Pluoštinėse kanapėse nustatytas didesnis seskviterpenų nei monoterpenų kiekis. Identifikuoti dominuojantys monoterpenai yra α -pinenas ir mircenas bei seskviterpenai – E-kariofilenas, α -humulenenas ir kariofileno oksidas. Bendras monoterpenų kiekis sudarė nuo 0,72 iki 17,31 %, statistiškai reikšmingai mažiausią kiekį sukaupė ‘Pūrini’ ir ‘Picolo’, o didžiausią – ‘Sidrabi’ veislių pluoštinės kanapės. Bendras seskviterpenų kiekis varijavo nuo 66,60 iki 81,65 %, statistiškai reikšmingai mažiausias kiekis nustatytas ‘Finola’, o didžiausias – ‘Picolo’ veislių pluoštinėse kanapėse. Pagrindinis dominuojantis kanabinoidas pluoštinių kanapių EO buvo CBD, statistiškai reikšmingai mažiausia CBD koncentracija identifikuota ‘Sidrabi’, o didžiausia – ‘CRS-1’ veislių pluoštinėse kanapėse.

Palyginus gautus tyrimo rezultatus su pateikiamais literatūroje buvo nustatyti tie patys pagrindiniai monoterpenų ir seskviterpenų komponentai, tačiau skyrėsi jų bendros santykinės koncentracijos. Mokslininkai L. Nissen’as ir kt. nustatė bendrą monoterpenų bei seskviterpenų kiekį skirtingų veislių pluoštinėse kanapėse: ‘Carmagnola’ ‘Fibranova-I’, ‘Fibranova-II’ ir ‘Futura’. Bendras monoterpenų kiekis sudarė nuo 58,06 iki 68,40 %, o seskviterpenų – nuo 26,11 iki 37,97 % [185]. Be to, J. Novak’as ir kt. ištyrė, kad priklausomai nuo pluoštinių kanapių veislės (‘SwissMix’, ‘Felina’, ‘Fedrina’, ‘Kompolti’, ‘Secuemi’) pagrindiniai identifikuoti monoterpenai yra α -pinenas (7,21–14,61 %) ir mircenas (21,08–35,02 %), o pagrindiniai seskviterpenai – E-kariofilenas (12,19–18,93 %), α -humulenenas (6,10–8,71 %) bei kariofileno oksidas (1,20–1,58 %) [186]. G. Benelli’s ir kt. taip pat nustatė, kad didžiausiomis koncentracijomis randami monoterpenai pluoštinėse kanapėse yra α -pinenas (16,40 %) ir mircenas (14,20 %), o labiausiai paplitę seskviterpenai – E-kariofilenas (23,80 %) ir α -humulenenas (8,30 %) [170]. Šie literatūroje pateikti duomenys parodė santykinai didelę monoterpenų koncentraciją pluoštinėse kanapėse. Kita vertus, M. Tognolini’is ir kt. nustatė mažesnę dominuojančių monoterpenų kiekį: α -pineno koncentracija sudarė 1,32 %, o mircenos – 0,22 %. Šiame tyrime pagrindiniai identifikuoti seskviterpenai buvo kariofilenas (25 %) ir kariofileno oksidas (7,38 %) [187]. Vis dėlto, skirtingų veislių komponentų kiekybinius skirtumus gali lemti ne tik veislės genetinės savybės, bet ir pluoštinių kanapių auginimo sąlygos, žaliavos paruošimas bei distiliavimo parametrų parinkimas [186].

5 lentelė. Skirtingų kanapių veislių pagrindinių lakiųjų aromato komponentų cheminė sudėtis, %

Junginys ^b	KI ^a	Veislė										
		CFX-1	CFX-2	CRS-1	Regina	Katani	Adzelveiši	Finola	Picolo	Grandi	Sidrabi	Pūrini
α-Pinenas	942	3,19±0,03^b	3,70±0,03^c	4,54±0,04^e	5,65±0,02^h	4,46±0,05^d	0,06±0,00^a	4,71±0,08^f	–	5,08±0,03^g	6,08±0,04ⁱ	0,03±0,00^a
β-Pinenas	984	1,52±0,01 ^c	1,73±0,02 ^d	2,04±0,02 ^h	1,84±0,01 ^e	1,87±0,02 ^f	0,08±0,00 ^b	2,02±0,04 ^g	0,03±0,00 ^a	2,16±0,01 ⁱ	2,31±0,01 ^j	0,04±0,00 ^a
Mircenas	996	2,23±0,02^d	2,98±0,03^g	4,34±0,04ⁱ	1,60±0,01^c	2,88±0,03^f	0,32±0,01^b	2,73±0,05^e	0,16±0,01^a	3,96±0,03^h	5,72±0,03^j	0,28±0,00^b
Limonenas	1037	0,94±0,00 ^f	1,07±0,01 ^g	1,19±0,01 ⁱ	0,60±0,00 ^c	1,12±0,01 ^h	0,13±0,00 ^b	0,92±0,02 ^e	0,09±0,00 ^a	1,22±0,01 ^j	0,83±0,01 ^d	0,10±0,00 ^a
E-β-Ocimenas	1055	0,55±0,01 ^c	0,57±0,01 ^d	1,01±0,01 ^h	0,58±0,01 ^d	0,76±0,02 ^f	0,22±0,01 ^b	0,71±0,02 ^e	0,14±0,01 ^a	1,08±0,01 ⁱ	0,95±0,01 ^g	0,13±0,00 ^a
Terpinolenas	1095	1,05±0,00 ^e	1,08±0,01 ^f	1,10±0,02 ^g	1,30±0,01 ⁱ	1,19±0,02 ^h	0,56±0,01 ^c	0,83±0,02 ^d	0,31±0,00 ^b	1,38±0,01 ^j	1,42±0,01 ^k	0,14±0,00 ^a
E-Kariofilenas	1435	31,46±0,11^g	26,28±0,22^b	29,55±0,16^e	29,27±0,19^{de}	28,74±0,20^c	32,71±0,05^h	21,94±0,29^a	33,02±0,14^{hi}	28,98±0,17^{cd}	30,52±0,11^f	33,20±0,55ⁱ
E-α-Bergamotenas	1446	2,00±0,01 ^e	1,93±0,02 ^d	1,52±0,01 ^a	1,82±0,01 ^c	2,17±0,03 ^g	2,11±0,01 ^f	1,73±0,02 ^b	2,84±0,02 ⁱ	2,12±0,01 ^f	2,71±0,01 ^h	2,85±0,05 ⁱ
E-β-Farnesenas	1465	1,89±0,01 ^a	2,39±0,04 ^e	2,00±0,01 ^b	2,21±0,03 ^c	2,91±0,03 ^g	3,04±0,07 ^h	2,28±0,03 ^d	3,60±0,01 ^j	2,80±0,01 ^f	3,33±0,02 ⁱ	3,57±0,06 ^j
α-Humulenas	1468	9,13±0,03^h	7,84±0,06^c	8,58±0,05^g	7,68±0,06^b	8,03±0,07^d	9,48±0,04ⁱ	6,38±0,07^a	9,63±0,03^j	8,19±0,07^e	8,34±0,02^f	9,96±0,17^k
β-Selinenas	1500	2,83±0,02 ^b	4,03±0,08 ^f	4,03±0,02 ^f	3,88±0,02 ^e	3,70±0,15 ^d	4,44±0,02 ^g	3,57±0,13 ^c	4,09±0,02 ^f	3,53±0,03 ^c	2,69±0,06 ^a	3,88±0,07 ^e
α-Selinenas	1508	2,06±0,01 ^b	2,41±0,04 ^f	2,34±0,01 ^e	2,26±0,01 ^d	2,25±0,07 ^d	2,66±0,02 ^g	2,11±0,10 ^{bc}	2,41±0,01 ^f	2,15±0,02 ^c	1,94±0,05 ^a	2,32±0,04 ^e
β-Bisabolenas	1518	0,79±0,01 ^c	–	0,28±0,00 ^b	–	0,25±0,00 ^a	0,86±0,03 ^d	–	1,15±0,02 ^e	0,24±0,00 ^a	–	–
E-Nerolidolis	1575	0,77±0,01 ^c	0,98±0,01 ^f	0,69±0,00 ^a	0,72±0,01 ^b	0,81±0,01 ^d	0,84±0,01 ^e	1,17±0,05 ^g	1,23±0,02 ^h	0,71±0,01 ^{ab}	0,70±0,02 ^{ab}	0,79±0,04 ^{cd}
Kariofileno oksidas	1600	13,16±0,03^d	15,04±0,07^g	13,53±0,14^e	9,83±0,10^a	13,21±0,18^d	15,32±0,17^h	17,48±0,39ⁱ	15,01±0,04^g	12,87±0,12^c	11,28±0,07^b	14,65±0,16^f
Guajolis	1614	0,03±0,00 ^a	–	0,03±0,00 ^a	2,99±0,04 ^d	0,41±0,01 ^c	0,06±0,00 ^{ab}	–	0,06±0,02 ^a	–	0,06±0,00 ^{ab}	0,09±0,00 ^b
Humuleno epoksidas II	1630	3,54±0,01 ^f	4,04±0,05 ⁱ	3,37±0,04 ^e	2,22±0,05 ^a	3,28±0,02 ^d	3,88±0,06 ^h	4,30±0,12 ^j	3,73±0,02 ^g	3,19±0,02 ^c	2,70±0,05 ^b	4,32±0,07 ^j
10-epi-γ – Eudesmolis	1639	0,52±0,01 ^{cd}	0,46±0,07 ^b	0,37±0,01 ^a	2,57±0,03 ^g	0,58±0,03 ^{de}	0,48±0,06 ^{bc}	0,54±0,05 ^d	0,66±0,02 ^f	0,46±0,02 ^b	0,35±0,04 ^a	0,62±0,03 ^{ef}
γ – Eudesmolis	1652	0,87±0,04 ^f	0,11±0,01 ^a	0,83±0,01 ^e	0,76±0,04 ^d	1,06±0,01 ^h	1,12±0,04 ⁱ	0,40±0,01 ^c	1,26±0,01 ^j	0,98±0,03 ^g	0,90±0,02 ^f	0,22±0,01 ^b
Kariofila-4(12),8(13)-dien-5β-olis	1656	0,81±0,05 ^d	0,99±0,03 ^e	0,57±0,00 ^b	0,60±0,02 ^b	0,73±0,05 ^c	0,96±0,04 ^e	1,40±0,10 ^f	0,10±0,01 ^a	0,74±0,05 ^c	0,82±0,02 ^d	1,51±0,04 ^g
β-Eudesmolis	1673	0,21±0,01 ^d	0,39±0,02 ^e	0,18±0,01 ^c	1,71±0,03 ^h	0,40±0,01 ^e	0,70±0,02 ^g	0,11±0,01 ^b	0,59±0,02 ^f	0,05±0,01 ^a	0,07±0,01 ^a	0,05±0,00 ^a
β-Bisabololis	1691	1,91±0,06 ^f	2,19±0,07 ^g	1,75±0,05 ^e	1,06±0,01 ^b	1,63±0,04 ^d	0,08±0,00 ^a	2,36±0,07 ^h	1,74±0,04 ^e	1,56±0,06 ^d	1,17±0,02 ^c	2,41±0,06 ^h
α-Bisabololis	1698	0,61±0,01 ^d	0,86±0,05 ^e	0,03±0,01 ^a	1,56±0,01 ^f	0,48±0,01 ^c	1,95±0,09 ^g	0,83±0,05 ^e	0,53±0,01 ^c	0,38±0,01 ^b	0,52±0,01 ^c	0,64±0,01 ^d
CBD	2462	4,72±0,09^h	4,20±0,09^g	5,17±0,19ⁱ	2,49±0,03^c	3,35±0,04^e	4,30±0,10^g	4,25±0,13^g	2,70±0,03^d	2,33±0,05^b	1,60±0,05^a	3,80±0,12^f
Bendras monoterpenų kiekis (%)		9,48±0,01 ^c	11,13±0,02 ^d	14,22±0,02 ^h	11,57±0,01 ^e	12,28±0,03 ^g	1,37±0,01 ^b	11,92±0,04 ^f	0,73±0,00 ^a	14,88±0,02 ⁱ	17,31±0,02 ^j	0,72±0,00 ^a
Bendras seskviterpenų kiekis (%)		72,59±0,03 ^h	69,94±0,06 ^e	69,65±0,03 ^d	71,14±0,04 ^g	70,64±0,06 ^f	80,69±0,05 ⁱ	66,60±0,11 ^a	81,65±0,03 ^k	68,95±0,04 ^c	68,10±0,04 ^b	81,08±0,09 ^j
Bendras kanabinoidų kiekis (%)		4,72±0,09 ^h	4,20±0,09 ^g	5,17±0,19 ⁱ	2,49±0,03 ^c	3,35±0,04 ^e	4,30±0,10 ^g	4,25±0,13 ^g	2,70±0,03 ^d	2,33±0,05 ^b	1,60±0,05 ^a	3,80±0,12 ^f

^aKováts sulaikymo indeksas apskaičiuotas pagal C₇-C₃₀ standartinį alkanų mišinį nepolinėje Elite-5 kolonėje; ^bIdentifikuota pagal GC-TOF/MS spektrus ir Kováts sulaikymo indeksą

^{a,b} – reikšmės eilutėse pažymėtos tomis pačiomis mažosiomis raidėmis pagal Fišerio LSD testą (P < 0,05) iš esmės nesiskiria

Analizuojant 'Finola' veislės skirtingo vegetacijos periodo lakiųjų aromato komponentų cheminę sudėtį identifikuoti 25 pagrindiniai komponentai, kurių koncentracija EO buvo ne mažesnė kaip 1 %: α -pinenas (0,78–11,63 %), β -pinenas (0,47–4,22 %), mircenas (0,79–16,25 %), limonenas (0,57–5,28 %), E- β -ocimenas (0,82–6,45 %), terpinolenas (0,02–5,47 %), E-kariofilenas (17,73–44,55 %), E- α -bergamotenas (1,13–2,96 %), E- β -farnesenas (2,60–6,85%), α -humulenai (5,49–11,52 %), β -selinenas (1,97–5,60 %), α -selinenas (1,53–3,65 %), α -E,E-Farnesenai (0,26–1,07 %), β -bisabolenai (0,56–1,96 %), β -seskvifelandrenai (0,45–1,53 %), E-nerolidolis (0,36–1,08 %), kariofileno oksidas (2,37–10,88 %), humuleno epoksidai II (0,58–2,62 %), γ -eudesmolis (0,24–1,17 %), kariofila-4(12),8(13)-dien-5 β -olis (0,23–1,66 %), β -bisabololis (0,41–1,84 %), α -bisabololis (0,18–1,51 %), fitolis (0,17–8,06 %), CBD (1,07–23,83 %) ir Δ^9 -THC (0,05–1,30 %) (žr. 6 lent.). Skirtingo vegetacijos periodo metu nustatytas didesnis seskviterpenų nei monoterpenų kiekis. Identifikuoti dominuojantys monoterpenai yra α -pinenas ir mircenai bei seskviterpenai – E-kariofilenas, α -humulenai ir kariofileno oksidas. Bendras monoterpenų kiekis sudarė nuo 3,99 iki 37,72 %, statistiškai reikšmingai mažiausią kiekį sukaupe švieži lapai žydėjimo metu, o didžiausią – švieži lapai po žydėjimo (Lietuva). Bendras seskviterpenų kiekis varijavo nuo 43,24 iki 84,43 %, statistiškai reikšmingai mažiausias kiekis nustatytas šviežiuose žieduose žydėjimo metu, o didžiausias – džiovintuose lapuose po žydėjimo (Estija). Pagrindiniai dominuojantys kanabinoidai skirtingo vegetacijos periodo metu pluoštinių kanapių EO buvo CBD ir Δ^9 -THC. Bendras kanabinoidų kiekis skirtingo vegetacijos periodo metu kito nuo 1,12 iki 25,17 %. Literatūroje nurodoma, kad didžiausia kanabinoidų koncentracija sukaupiama žieduose ir viršutiniuose kanapių lapuose žydėjimo metu [7]. Atlikto tyrimo duomenys rodo, kad skirtingo vegetacijos periodo metu statistiškai reikšmingai didžiausia CBD ir Δ^9 -THC koncentracija nustatyta šviežiuose lapuose prieš žydėjimą ir žviežiuose žieduose žydėjimo metu, atitinkamai 23,83 ir 23,87 % bei 1,10 ir 1,30 %. Mokslininkai A. Bertoli ir kt. ištyrė, kad maksimali CBD koncentracija pluoštinių kanapių EO žieduose sudarė 13,90 %. Jie taip pat identifikavo šviežių žiedų EO komponentų sudėtį priklausomai nuo veislės. Nustatyti dominuojantys komponentai: α -pinenas (3,05–20,44 %), β -pinenas (1,45–7,95 %), mircenai (8,23–45,35 %), limonenai (iki 6,37 %), terpinolenai (0,12–22,16 %), kariofilenas (7,26–28,02 %), α -humulenai (3,25–9,46 %), kariofileno oksidas (1,92–5,72 %) [183]. J. K Booth ir kt. nustatė 'Finola' veislės džiovintų kanapių žiedų terpenų sudėtį, kurią sudarė: α -pinenas (23,0 ± 17,0 %), β -pinenas (8,6 ± 4,6 %), mircenai (27,0 ± 21,0 %), limonenai (12,0 ± 10,0 %), E- β -ocimenai (10,0 ± 6,5 %), terpinolenai (18,0 ± 14,0 %), kariofilenas (46,0 ± 13,0 %), bergamotenas (3,6 ± 3,0 %), farnesenai (4,4 ± 3,6 %), α -humulenai (19,0 ± 7,6 %) [64]. Mokslinėje literatūroje yra pateikiama mažai duomenų susijusių su lakiųjų aromato komponentų analize skirtingo vegetacijos periodo laikotarpiu, dėl to yra reikalingi detalūs tyrimai. Kita vertus, lyginant literatūroje esamus duomenis su gautais tyrimo rezultatais buvo nustatyti tie patys pagrindiniai monoterpenų ir seskviterpenų komponentai, tačiau skyrėsi jų bendros santykinės koncentracijos, o tam įtakos galėjo turėti žaliavos auginimo, paruošimo ir analizės atlikimo metodai.

Apskaičiuoti skirtingų veislių ir skirtingo vegetacijos periodo dominuojančių EO monoterpenų ir seskviterpenų absoliutūs kiekiai mg/kg žaliavos įvertinant santykinį atsako koeficientą (RRF) (žr. 5 ir 6 priedus). Didžiausias absoliutus dominuojančių monoterpenų ir seskviterpenų kiekis nustatytas 'Sidrabi' veislės pluoštinėse kanapėse. Monoterpenų α -pineno ir mirceno koncentracija atitinkamai

6 lentelė. 'Finola' skirtingo vegetacijos periodo pagrindinių lakiųjų aromato komponentų cheminė sudėtis, %

Junginys ^b	KI ^a	Vegetacijos periodas									
		Prieš žydėjimą		Žydėjimo metu				Po žydėjimo (Estija)		Po žydėjimo (Lietuva)	
		Švieži lapai	Džiovinti lapai	Švieži lapai	Džiovinti lapai	Švieži žiedai	Džiovinti žiedai	Švieži lapai	Džiovinti lapai	Švieži lapai	Džiovinti lapai
α-Pinenas	942	1,88±0,04^d	2,87±0,02^e	0,78±0,08^a	1,37±0,02^c	3,06±0,06^f	11,63±0,15^j	7,51±0,17^h	1,19±0,01^b	10,37±0,26ⁱ	3,95±0,03^g
β-Pinenas	984	0,96±0,03 ^d	1,26±0,00 ^e	0,47±0,05 ^a	0,65±0,01 ^c	1,52±0,06 ^f	4,22±0,05 ^j	2,56±0,10 ^h	0,55±0,00 ^b	3,89±0,09 ⁱ	1,78±0,01 ^g
Mircenas	996	0,79±0,02^a	1,35±0,01^b	0,94±0,09^a	1,40±0,02^b	9,66±0,33^f	16,25±0,21^g	5,07±0,11^d	0,88±0,01^a	7,58±0,18^e	1,94±0,01^c
Limonenas	1037	0,71±0,02 ^{bc}	0,84±0,01 ^d	0,57±0,06 ^a	0,64±0,01 ^{ab}	1,48±0,06 ^e	2,23±0,03 ^g	2,48±0,10 ^h	0,77±0,01 ^{cd}	5,28±0,13 ⁱ	1,75±0,01 ^f
E-β-Ocimenas	1055	0,82±0,01 ^a	1,46±0,02 ^e	1,21±0,04 ^c	1,67±0,03 ^f	1,34±0,05 ^d	1,75±0,03 ^f	6,45±0,23 ⁱ	0,93±0,01 ^b	5,13±0,11 ^h	2,26±0,02 ^g
Terpinolenas	1095	0,03±0,00 ^a	0,06±0,00 ^a	0,02±0,00 ^a	0,03±0,00 ^a	0,39±0,02 ^b	0,40±0,00 ^b	3,63±0,13 ^d	0,47±0,00 ^b	5,47±0,28 ^e	1,75±0,01 ^c
E-Kariofilenas	1435	22,02±0,98^c	31,74±0,42^f	19,30±0,56^b	31,70±0,83^f	17,73±0,48^a	23,92±0,08^d	30,09±1,10^e	44,55±0,26^h	21,26±0,31^c	36,63±0,19^g
E-α-Bergamotenas	1446	1,35±0,05 ^b	2,42±0,03 ^g	1,81±0,05 ^e	2,87±0,07 ^h	1,14±0,03 ^a	1,55±0,01 ^d	1,48±0,05 ^e	2,96±0,02 ⁱ	1,13±0,02 ^a	2,36±0,01 ^f
E-β-Farnesenas	1465	3,14±0,09 ^b	5,55±0,04 ^g	4,05±0,18 ^e	5,92±0,12 ^h	2,60±0,06 ^a	3,28±0,01 ^c	3,53±0,10 ^d	6,85±0,05 ⁱ	2,67±0,03 ^a	5,19±0,05 ^f
α-Humulenas	1468	7,23±0,14^c	9,14±0,14^h	5,80±0,15^b	8,15±0,24^f	5,49±0,08^a	6,97±0,04^d	8,86±0,14^g	11,52±0,10^j	6,77±0,08^c	9,67±0,03ⁱ
β-Selinenas	1500	2,52±0,10 ^b	4,63±0,07 ^g	3,12±0,10 ^e	4,81±0,14 ^h	2,77±0,06 ^c	3,63±0,02 ^f	2,93±0,10 ^d	5,60±0,03 ^j	1,97±0,02 ^a	4,93±0,03 ⁱ
α-Selinenas	1508	1,98±0,07 ^c	2,85±0,03 ^{ef}	1,87±0,06 ^b	2,80±0,08 ^e	2,22±0,04 ^d	2,93±0,03 ^f	1,93±0,08 ^{bc}	3,65±0,04 ^h	1,53±0,02 ^a	3,29±0,02 ^g
α-E,E-Farnesenas	1515	0,47±0,04 ^d	0,56±0,01 ^e	0,50±0,05 ^d	1,07±0,04 ^g	0,43±0,01 ^c	0,34±0,01 ^b	0,41±0,01 ^c	0,65±0,01 ^f	0,26±0,00 ^a	0,58±0,00 ^g
β-Bisabolenas	1518	0,56±0,02 ^a	1,37±0,03 ^f	0,56±0,06 ^a	0,72±0,01 ^c	1,17±0,04 ^e	1,96±0,03 ^h	0,93±0,05 ^d	1,62±0,02 ^g	0,61±0,01 ^b	1,32±0,01 ^f
β-Seskvifelandrenas	1537	0,81±0,03 ^c	1,21±0,01 ^f	0,92±0,03 ^d	1,18±0,04 ^f	0,78±0,03 ^c	0,45±0,02 ^a	0,81±0,03 ^c	1,53±0,01 ^g	0,55±0,01 ^b	0,97±0,02 ^e
E-Nerolidolis	1575	0,62±0,03 ^e	0,55±0,02 ^d	0,84±0,06 ^f	0,51±0,01 ^{bc}	1,08±0,02 ^g	0,62±0,01 ^e	0,62±0,01 ^e	0,49±0,01 ^b	0,36±0,02 ^a	0,54±0,00 ^{cd}
Kariofileno oksidas	1600	3,96±0,15^{cd}	3,69±0,05^c	10,88±0,71^h	6,58±0,18^g	4,32±0,11^{de}	2,78±0,05^b	2,37±0,04^a	2,66±0,02^{ab}	4,82±0,13^f	4,68±0,05^{ef}
Humuleno epoksidas II	1630	0,86±0,04 ^b	0,80±0,01 ^b	2,62±0,10 ^g	1,62±0,05 ^f	0,97±0,04 ^c	0,59±0,01 ^a	0,58±0,02 ^a	0,62±0,01 ^a	1,19±0,07 ^e	1,08±0,02 ^d
γ-Eudesmolis	1652	0,66±0,04 ^e	0,65±0,02 ^e	1,17±0,05 ^f	0,44±0,01 ^c	0,50±0,04 ^d	0,31±0,01 ^b	0,32±0,01 ^b	0,24±0,00 ^a	0,55±0,04 ^d	0,45±0,02 ^c
Kariofila-4(12),8(13)-dien-5β-olis	1656	0,40±0,03 ^c	0,29±0,01 ^b	1,66±0,07 ^h	0,72±0,02 ^f	0,72±0,04 ^f	0,23±0,01 ^a	0,46±0,01 ^d	0,33±0,01 ^b	0,79±0,05 ^g	0,66±0,03 ^e
β-Bisabololis	1691	0,84±0,04 ^d	0,82±0,02 ^d	1,84±0,02 ^g	1,15±0,04 ^f	0,79±0,08 ^d	0,41±0,03 ^a	0,68±0,03 ^e	0,53±0,03 ^b	0,92±0,05 ^e	0,82±0,02 ^d
α-Bisabololis	1698	1,51±0,05 ^f	0,92±0,02 ^e	0,57±0,00 ^c	0,63±0,02 ^d	0,53±0,04 ^{bc}	0,18±0,01 ^a	0,88±0,04 ^e	0,63±0,01 ^d	0,48±0,04 ^b	0,67±0,01 ^d
Fitolis	2125	4,43±0,05 ^d	4,76±0,08 ^d	8,06±0,08 ^f	6,05±0,61 ^e	1,38±0,09 ^c	0,17±0,01 ^a	0,44±0,01 ^{ab}	0,59±0,05 ^b	0,41±0,05 ^{ab}	0,63±0,09 ^b
CBD	2462	23,83±1,01^e	6,02±0,20^b	11,72±1,40^d	2,11±0,25^a	23,87±1,26^e	1,07±0,10^a	7,87±0,36^c	1,50±0,07^a	6,63±0,06^{bc}	1,73±0,05^a
Δ⁹-THC	2557	1,10±0,01^e	0,26±0,01^c	0,71±0,10^d	0,08±0,01^{ab}	1,30±0,06^f	0,05±0,01^a	0,28±0,06^c	0,08±0,01^{ab}	0,14±0,03^b	0,09±0,01^{ab}
Bendras monoterpenu kiekis (%)		5,19±0,02 ^c	7,84±0,01 ^e	3,99±0,05 ^a	5,76±0,02 ^d	17,45±0,10 ^g	36,48±0,08 ⁱ	27,70±0,14 ^h	4,79±0,01 ^b	37,72±0,18 ^j	13,43±0,02 ^f
Bendras seskviterpenų kiekis (%)		48,93±0,12 ^c	67,19±0,06 ^g	57,51±0,14 ^f	70,87±0,12 ^h	43,24±0,08 ^a	50,15±0,02 ^d	56,88±0,11 ^e	84,43±0,04 ^j	45,86±0,06 ^b	73,84±0,03 ⁱ
Bendras kanabinoidų kiekis (%)		24,93±0,51 ^f	6,28±0,11 ^c	12,43±0,75 ^e	2,19±0,13 ^b	25,17±0,66 ^f	1,12±0,06 ^a	8,15±0,21 ^d	1,58±0,04 ^{ab}	6,77±0,05 ^c	1,82±0,03 ^{ab}

^aKováts sulaikymo indeksas apskaičiuotas pagal C₇-C₃₀ standartinį alkanų mišinį nepolinėje Elite-5 kolonėje; ^bIdentifikuota pagal GC-TOF/MS spektrus ir Kováts sulaikymo indeksą

^{a,b} – reikšmės eilutėse pažymėtos tomis pačiomis mažosiomis raidėmis pagal Fišerio LSD testą (P < 0,05) iš esmės nesiskiria

sudarė 58,24 ir 54,77 mg/kg S.M, o seskviterpenų E-kariofileno, α -humuleno ir kariofileno oksido – atitinkamai 287,06 ir 78,46 bei 117,34 mg/kg S.M (žr. 5 priedą). Skirtingo vegetacijos periodo metu įvertinus absoliučius terpenų kiekius, maksimali monoterpenų koncentracija nustatyta šviežiuose lapuose po žydėjimo (Estija ir Lietuva). α -Pineno ir mirceno kiekis šviežiuose lapuose po žydėjimo (Estija) atitinkamai sudarė 69,96 ir 47,29 mg/kg, o po žydėjimo (Lietuva) – 56,61 ir 41,41 mg/kg šviežios žaliavos. Maksimalus seskviterpenų kiekis nustatytas džiovintuose lapuose po žydėjimo (Estija ir Lietuva). Pavyzdžiui, E-kariofileno kiekis džiovintuose lapuose po žydėjimo (Estija) sudarė 778,53 mg/kg, o po žydėjimo (Lietuva) – 492,58 mg/kg S.M (žr. 6 priedą).

3.3 Ekstrakcijos liekanų išeiga gauta po hidrodistiliacijos (HD)

HD metu išskirtas EO ir kitos lipofiliškos medžiagos sudaro tik nedidelę pluoštinių kanapių žaliavos dalį, todėl tikslinga iširti bei įvertinti HD liekanas. Kieta liekana išdžiovinta pramoninėje džiovyklėje su aktyvia ventilacija ir sumalta iki miltelių konsistencijos mėginių. O skysta liekana filtruota ir liofilizuota sublimacinėje džiovyklėje, taip gaunant miltelių konsistencijos mėginius. Liofilizavimo metu produktas užšaldomas žemoje temperatūroje, po to vakuume kameroje džiovinamas išgarinant sušalusį produkto skystį. Produktas visiškai neveikiamas aukšta temperatūra, o struktūrinis jo vientisumas ir biologinis aktyvumas lieka nepakitęs. Produktas užkonservuojamas, nes vandens pašalinimas sustabdo mikroorganizmų ir fermentų veiklą [188].

7 lentelė. Skirtingų veislių hidrodistiliacijos (HD) produktų išeiga, g/100 g S.M

Veislė	Po HD, liofilizuoto vandeninio ekstrakto išeiga	Po HD, kietos liekanos išeiga
CFX-1	20,69 ± 1,90 ^d	55,68 ± 1,67 ^a
CFX-2	16,35 ± 0,54 ^{abc}	63,97 ± 0,85 ^{abc}
CRS-1	16,84 ± 1,34 ^{abc}	56,77 ± 0,95 ^a
Regina	17,82 ± 0,42 ^{bc}	59,99 ± 0,26 ^{abc}
Katani	16,94 ± 0,74 ^{abc}	65,24 ± 1,90 ^{abc}
Adzelvieši	17,70 ± 0,16 ^{bc}	57,65 ± 12,57 ^{ab}
Finola	15,41 ± 1,47 ^a	63,08 ± 7,31 ^{abc}
Piccolo	18,31 ± 0,75 ^c	67,16 ± 1,18 ^{bc}
Grandi	16,62 ± 0,08 ^{abc}	63,03 ± 4,15 ^{abc}
Sidrabi	16,09 ± 0,11 ^{ab}	69,09 ± 1,61 ^c
Pūrini	17,56 ± 0,45 ^{bc}	66,18 ± 3,63 ^{bc}

^{a,b} – reikšmės stulpeliuose pažymėtos tomis pačiomis mažosiomis raidėmis pagal Fišerio LSD testą ($P < 0,05$) iš esmės nesiskiria

Priklausomai nuo pluoštinių kanapių veislės liofilizuotų miltelių išeiga iš dezodoruoto vandeninio ekstrakto po HD sudarė nuo 15,41 iki 20,69 g/100 g S.M (žr. 7 lent.). Statistiškai reikšmingai didžiausia liofilizuotų miltelių išeiga nustatyta ‘CFX-1’, o mažiausia – ‘Finola’ veislių pluoštinėse kanapėse. Kietos liekanos išeiga po HD sudarė nuo 55,68 iki 69,09 g/100 g S.M. Statistiškai reikšmingai didžiausia kietos liekanos išeiga nustatyta ‘Sidrabi’, o mažiausia ‘CFX-1’ ir ‘CRS-1’ veislių pluoštinėse kanapėse. Taigi, galima daryti išvadą, kad efektyviausia ekstrakcija HD metu buvo nustatyta naudojant ‘CFX-1’ veislės pluoštinių kanapių žaliavą, kadangi naudojant šią žaliavą gauta didžiausia vandeninio ekstrakto ir mažiausia kietos liekanos išeiga.

8 lentelė. ‘Finola’ skirtingo vegetacijos periodo hidrodistiliacijos (HD) produktų išeiga, g/100 g*

Vegetacijos periodas	Augalinė žaliava	Po HD, liofilizuoto vandeninio ekstrakto išeiga	Po HD, kietos liekanos išeiga
Prieš žydėjimą	Švieži lapai	_B 11,69 ± 0,45 ^b	_{AB} 18,74 ± 0,37 ^b
	Džiovinti lapai	₂ 31,14 ± 1,65 ^f	₁ 54,82 ± 0,66 ^c
Žydėjimo metu	Švieži lapai	_A 7,83 ± 0,02 ^a	_A 16,58 ± 0,19 ^b
	Džiovinti lapai	₁ 27,32 ± 0,41 ^e	₃ 60,97 ± 0,21 ^f
	Švieži žiedai	8,14 ± 1,32 ^a	9,58 ± 0,12 ^a
	Džiovinti žiedai	24,67 ± 0,47 ^d	32,13 ± 0,24 ^d
Po žydėjimo (Estija)	Švieži lapai	_C 16,29 ± 2,08 ^c	_B 27,35 ± 0,46 ^c
	Džiovinti lapai	₁ 27,92 ± 1,10 ^e	₂ 56,58 ± 0,98 ^{ef}
Po žydėjimo (Lietuva)	Švieži lapai	_{AB} 9,49 ± 0,10 ^{ab}	_{AB} 20,88 ± 0,16 ^b
	Džiovinti lapai	₁ 27,73 ± 0,69 ^e	₃ 60,41 ± 0,41 ^f

*šviežiems lapams ir žiedams šviežioje medžiagoje, džiovintiems lapams ir žiedams sausoje medžiagoje

^{a,b} – reikšmės stulpeliuose pažymėtos tomis pačiomis mažosiomis raidėmis pagal Fišerio LSD testą ($P < 0,05$) iš esmės nesiskiria

^{A,B} – reikšmės stulpeliuose tarp šviežių lapų bei vegetacijos periodo pažymėtos tomis pačiomis didžiosiomis raidėmis pagal Fišerio LSD testą ($P < 0,05$) iš esmės nesiskiria

^{1,2} – reikšmės stulpeliuose tarp džiovintų lapų bei vegetacijos periodo pažymėtos tuo pačiu skaičiumi pagal Fišerio LSD testą ($P < 0,05$) iš esmės nesiskiria

Priklausomai nuo vegetacijos periodo ir anatominės augalo dalies (lapai ar žiedai) bei apdorojimo būdo (švieži ar džiovinti) liofilizuotų miltelių išeiga iš dezodoruoto vandeninio ekstrakto po HD sudarė nuo 7,83 iki 31,14 g/100 g S.M (žr. 8 lent.). Galima pastebėti, kad džiovintų mėginių vandeninio ekstrakto ir kietos liekanos išeigos buvo didesnės nei šviežių mėginių. Taip yra dėl padidėjusios produkto koncentracijos džiovinimo proceso metu, išgarinus vandenį. Dėl šios priežasties buvo atliktos kelios statistinės analizės siekiant palyginti bendrai ir atskirai džiovintus ir šviežius mėginius. Šviežių ir džiovintų žiedų vandeninio ekstrakto ir kietos liekanos išeigos nustatytos statistiškai reikšmingai mažesnės nei šviežių ar džiovintų lapų. Išskyrus šviežių žiedų vandeninį ekstraktą, kadangi statistinis skirtumas tarp šviežių lapų ir žiedų vandeninio ekstrakto žydėjimo metu nebuvo nustatytas. Statistiškai reikšmingai didžiausia liofilizuotų miltelių išeiga šviežiuose lapuose nustatyta po žydėjimo (Estija), o džiovintuose lapuose – prieš žydėjimą. Kietos liekanos išeiga po HD sudarė nuo 9,58 iki 60,97 g/100 g S.M. Statistiškai reikšmingai mažiausia kietos liekanos išeiga šviežiuose lapuose nustatyta žydėjimo metu, o džiovintuose lapuose – prieš žydėjimą. Taigi, galima daryti prielaidą, kad efektyviausia HD ekstrakcija naudojant šviežius ir džiovintus lapus nustatyta prieš žydėjimą, kadangi kietos liekanos išeiga procentaliai buvo mažiausia iš esamų lyginant su vandeninio ekstrakto išeiga ir atitinkamai buvo 60,31 bei 76,04 % didesnė.

3.4 Pradinės žaliavos ir ekstrakcijos liekanų po hidrodistiliacijos (HD) antioksidacinis potencialas

Pradinės žaliavos ir ekstrakcijos liekanų gautų po HD bendras fenolinių junginių kiekis (TPC) įvertintas *Folin–Ciocalteu* metodu, antioksidacinis aktyvumas įvertintas ABTS^{•+} laisvųjų radikalų sujungimo metodu, o deguonies radikalų absorbcijos pajėgumas nustatytas ORAC metodu. Antioksidantų veikimas gali pasireikšti keliais mechanizmais – vandenilio atomo atidavimu (HAT, angl. *hydrogen atom transfer*) arba elektrono perdavimu (SET, angl. *single electron transfer*).

Veikiant šiems mechanizmomis prooksidantai yra neutralizuojami. HAT reakcijomis pagrįstais metodais galima įvertinti antioksidantų gebą neutralizuoti laisvuosius radikalus atiduodant vandenilio atomus ir suformuojant stabilus junginius. SET reakcijomis pagrįstais metodais įvertinama antioksidanto geba perduoti elektroną ir taip sumažinti metalų, karbonilų bei radikalų poveikį. SET reakcijos mechanizmu yra pagrįsti TPC ir ABTS⁺ laisvųjų radikalų sujungimo metodai, o HAT mechanizmu – ORAC metodas [189].

Vienas pagrindinių TPC metodo privalumų yra sugeriamumas. Redukuojantis standartiniam oksidantui, matyti absorbcijos spektro pokytis matomosios šviesos srityje. Šiam metodui nereikia struktūrizuoto metodų reglamentavimo ir jis iš esmės yra tikslus. Kita vertus, pagrindinis TPC metodo trūkumas yra toks, kad jis negali būti taikomas lipofilinių antioksidantų aktyvumo įvertinimui. Be to, TPC identifikuoja ne tik polifenolinius, bet ir nefenolinius junginius, dėl šios priežasties šis metodas nėra labai selektyvus. Nukleino rūgštys, baltymai ir askorbo rūgštis mažina Folin–Ciocalteu reagento aktyvumą. ABTS⁺ laisvųjų radikalų sujungimo gebos metodas yra greitas ir paprastas. Šis reagentas gali būti tirpinamas tiek vandenyje, tiek organiniuose tirpikliuose. Dėl šios priežasties ABTS⁺ yra tinkamas lipofilinių ir hidrofilinių antioksidantų aktyvumo įvertinimui. Be to, šis reagentas yra stabilus nepriklausomai nuo pH vertės. ABTS⁺ yra sintetinis reagentas, kuris natūraliai biologinėse sistemose neegzistuoja, dėl to negalima eksperimento atlikti *in vivo* sąlygomis [189]. ORAC analizės pagrindiniai privalumai: patikimumas, didelis jautrumas ir gebėjimas matuoti antioksidantų aktyvumą, kurie nutraukia laisvųjų radikalų susidarymo grandinę. O tam, kad būtų galima tiksliai įvertinti antioksidantų aktyvumą, vykdant ORAC analizę yra išmatuojamas antioksidantų slopinimo laikas ir slopinimo laipsnis. Pagrindiniai šios analizės trūkumai: jautrumas temperatūros pokyčiams (problemos sprendimas – išankstinis lėkštelių pašildymas) ir nesugebėjimas įvertinti visų biologiškai svarbių radikalų, kadangi ORAC matuoja tik peroksilo radikalus [190].

9 lentelė. Skirtingų veislių bendras fenolinių junginių kiekis (TPC) prieš ir po hidrodistiliacijos (HD)

Veislė	Prieš HD, mg GAE/g S.M	Po HD, vandeniniai ekstraktai, mg GAE/g ekstrakto	Po HD, vandeniniai ekstraktai, mg GAE/g S.M	Po HD, kieta liekana, mg GAE/g S.M
CFX-1	6,17 ± 0,13 ^f	34,02 ± 2,62 ^{ab}	7,06 ± 0,04 ^{cd}	0,82 ± 0,11 ^a
CFX-2	6,89 ± 0,05 ^h	39,53 ± 2,69 ^{def}	6,45 ± 0,22 ^{bc}	2,31 ± 0,26 ^{cd}
CRS-1	4,44 ± 0,15 ^c	43,39 ± 3,41 ^{fg}	7,28 ± 0,01 ^d	2,66 ± 0,26 ^{de}
Regina	4,74 ± 0,05 ^{cd}	40,78 ± 1,59 ^{def}	7,27 ± 0,46 ^d	2,40 ± 0,29 ^{cde}
Katani	6,54 ± 0,13 ^g	38,75 ± 0,00 ^{cde}	6,56 ± 0,29 ^{bc}	2,06 ± 0,13 ^{bc}
Adzelvieši	3,52 ± 0,35 ^b	34,38 ± 0,80 ^{abc}	6,09 ± 0,20 ^{ab}	2,46 ± 0,06 ^{cde}
Finola	4,91 ± 0,12 ^{de}	39,57 ± 1,23 ^{def}	6,09 ± 0,39 ^{ab}	2,45 ± 0,16 ^{cde}
Piccolo	5,07 ± 0,18 ^e	30,07 ± 0,50 ^a	5,51 ± 0,32 ^a	1,10 ± 0,09 ^a
Grandi	5,98 ± 0,05 ^f	36,93 ± 0,50 ^{bcd}	6,10 ± 0,05 ^{ab}	1,76 ± 0,05 ^b
Sidrabi	8,12 ± 0,05 ⁱ	47,50 ± 1,97 ^g	7,64 ± 0,27 ^d	2,81 ± 0,32 ^e
Pūrini	3,09 ± 0,19 ^a	41,59 ± 3,40 ^{ef}	7,34 ± 0,47 ^d	2,44 ± 0,22 ^{cde}

^{a,b} – reikšmės stulpeliuose pažymėtos tomis pačiomis mažosiomis raidėmis pagal Fisherio LSD testą (P < 0,05) iš esmės nesiskiria

10 lentelė. Skirtingų veislių ABTS⁺⁺ laisvųjų radikalų sujungimo geba prieš ir po hidrodistiliacijos (HD)

Veislė	Prieš HD, mg TE/g S.M	Po HD, vandeniniai ekstraktai, mg TE/g ekstrakto	Po HD, vandeniniai ekstraktai, mg TE/g S.M	Po HD, kieta liekana, mg TE/g S.M
CFX-1	42,23 ± 0,89 ^a	186,39 ± 7,76 ^d	34,28 ± 0,60 ^e	10,04 ± 2,02 ^a
CFX-2	64,94 ± 1,72 ^d	187,87 ± 9,86 ^d	30,19 ± 0,13 ^{cd}	13,18 ± 0,11 ^{bc}
CRS-1	50,37 ± 3,94 ^b	161,49 ± 7,95 ^c	27,13 ± 0,82 ^b	14,76 ± 0,13 ^{cd}
Regina	43,08 ± 0,32 ^a	155,78 ± 6,81 ^{bc}	27,77 ± 1,87 ^{bc}	21,91 ± 1,36 ^g
Katani	61,21 ± 1,22 ^{cd}	149,52 ± 6,58 ^{bc}	25,35 ± 2,22 ^{ab}	16,46 ± 1,53 ^{de}
Adzelvieši	63,68 ± 1,24 ^d	143,06 ± 4,81 ^b	25,33 ± 1,07 ^{ab}	18,62 ± 0,52 ^{ef}
Finola	61,69 ± 3,51 ^{cd}	162,98 ± 4,88 ^c	25,08 ± 1,64 ^{ab}	18,81 ± 0,24 ^f
Piccolo	42,87 ± 1,18 ^a	126,44 ± 8,62 ^a	23,18 ± 2,53 ^a	10,76 ± 0,32 ^a
Grandi	42,22 ± 2,92 ^a	142,85 ± 0,91 ^b	23,73 ± 0,04 ^a	12,09 ± 0,10 ^{ab}
Sidrabi	64,82 ± 2,89 ^d	196,75 ± 1,03 ^d	31,65 ± 0,04 ^{de}	27,83 ± 1,03 ⁱ
Pūrini	57,30 ± 3,54 ^c	187,16 ± 8,67 ^d	32,85 ± 0,67 ^{de}	24,45 ± 0,94 ^h

^{a,b} – reikšmės stulpeliuose pažymėtos tomis pačiomis mažosiomis raidėmis pagal Fišerio LSD testą (P < 0,05) iš esmės nesiskiria

11 lentelė. Skirtingų veislių deguonies radikalų absorbcijos pajėgumo nustatymas (ORAC) prieš ir po hidrodistiliacijos (HD)

Veislė	Prieš HD, mg TE/g S.M	Po HD, vandeniniai ekstraktai, mg TE/g ekstrakto	Po HD, vandeniniai ekstraktai, mg TE/g S.M	Po HD, kieta liekana, mg TE/g S.M
CFX-1	34,70 ± 4,72 ^{ab}	170,54 ± 2,36 ^d	35,26 ± 2,74 ^{de}	9,10 ± 0,78 ^a
CFX-2	55,46 ± 3,46 ^d	199,59 ± 9,09 ^e	33,05 ± 1,04 ^{cd}	16,98 ± 0,59 ^d
CRS-1	40,01 ± 1,41 ^b	247,82 ± 4,92 ^f	40,20 ± 6,93 ^{ef}	15,70 ± 0,30 ^c
Regina	49,65 ± 5,00 ^c	158,34 ± 1,56 ^c	28,21 ± 0,39 ^{bc}	19,93 ± 0,08 ^e
Katani	54,12 ± 2,31 ^{cd}	176,43 ± 0,55 ^d	30,48 ± 0,56 ^{bcd}	19,55 ± 0,14 ^e
Adzelvieši	54,45 ± 2,20 ^{cd}	146,50 ± 3,70 ^b	25,93 ± 0,43 ^{ab}	16,97 ± 0,24 ^d
Finola	56,69 ± 2,78 ^d	179,21 ± 1,00 ^d	27,62 ± 2,79 ^{bc}	21,96 ± 0,41 ^f
Piccolo	32,70 ± 0,49 ^a	115,88 ± 0,54 ^a	21,21 ± 0,77 ^a	13,09 ± 0,02 ^b
Grandi	31,42 ± 1,16 ^a	125,58 ± 6,05 ^a	20,87 ± 1,10 ^a	15,08 ± 0,04 ^c
Sidrabi	69,27 ± 3,81 ^e	283,98 ± 1,96 ^g	45,68 ± 0,01 ^{fg}	19,57 ± 0,42 ^e
Pūrini	58,50 ± 2,92 ^d	280,33 ± 11,43 ^g	49,25 ± 3,28 ^g	17,90 ± 1,46 ^d

^{a,b} – reikšmės stulpeliuose pažymėtos tomis pačiomis mažosiomis raidėmis pagal Fišerio LSD testą (P < 0,05) iš esmės nesiskiria

Skirtingų pluoštinių kanapių veislių TPC kiekis prieš HD varijavo nuo 3,09 iki 8,12 mg GAE/g S.M (žr. 9 lent.), o ABTS⁺⁺ laisvųjų radikalų sujungimo geba ir ORAC vertės atitinkamai kito nuo 42,22 iki 64,94 (žr. 10 lent.) bei nuo 31,42 iki 69,27 mg TE/g S.M (žr. 11 lent.). Statistiškai reikšmingai mažiausias TPC kiekis nustatytas ‘Pūrini’, o didžiausias – ‘Sidrabi’ veislių pluoštinėse kanapėse. Statistiškai reikšmingai mažiausia ABTS⁺⁺ laisvųjų radikalų sujungimo geba iširta ‘Grandi’, ‘Piccolo’, ‘Regina’ ir ‘CFX-1’, o didžiausia – ‘CFX-2’, ‘Sidrabi’ ir ‘Adzelvieši’ veislių pluoštinėse kanapėse. Statistiškai reikšmingai mažiausios ORAC vertės nustatytos ‘Grandi’ ir ‘Piccolo’, o didžiausios – ‘CFX-2’ ir ‘Pūrini’ veislių pluoštinėse kanapėse. Taigi, gauti rezultatai parodo, kad prieš HD didžiausiu antioksidaciniu aktyvumu pasižymėjo ‘Sidrabi’ ir ‘CFX-2’ veislių pluoštinės kanapės.

Po HD vandeninių ekstraktų TPC kiekis kito nuo 30,07 iki 47,50 mg GAE/g ekstrakto (žr. 9 lent.), o ABTS⁺ laisvųjų radikalų sujungimo geba ir ORAC vertės atitinkamai varijavo nuo 126,44 iki 196,75 (žr. 10 lent.) bei nuo 115,88 iki 283,98 mg TE/g ekstrakto (žr. 11 lent.). Statistiškai reikšmingai mažiausias TPC kiekis nustatytas ‘Picolo’, o didžiausias – ‘Sidrabi’ veislių pluoštinėse kanapėse. Statistiškai reikšmingai mažiausia ABTS⁺ laisvųjų radikalų sujungimo geba įvertinta ‘Picolo’, o didžiausia – ‘CFX-1’, ‘CFX-2’, ‘Sidrabi’ ir ‘Pūrini’ veislių pluoštinėse kanapėse. Statistiškai reikšmingai mažiausios ORAC vertės nustatytos ‘Picolo’ ir ‘Grandi’, o didžiausios – ‘Sidrabi’ ir ‘Pūrini’ veislių pluoštinėse kanapėse. Taigi, galima daryti išvadą, kad didžiausiu antioksidaciniu aktyvumu pasižymėjo vandeniniai ekstraktai gauti po HD iš ‘Sidrabi’ ir ‘Pūrini’ veislių pluoštinių kanapių.

Vieni ekstraktai gali pasižymėti stipriomis antioksidacinio aktyvumo savybėmis, tačiau jų išgaunamas kiekis gali būti nedidelis arba priešingai, ekstrakto aktyvumas gali būti mažas, o jo išeiga didelė. Dėl šios priežasties, antioksidacinis aktyvumas išreikštas sausos žaliavos medžiagos masei suteikia naudingos informacijos interpretuojant duomenis. Po HD vandeninių ekstraktų, išreikštų pradinei sausiai žaliavai, TPC kiekis varijavo nuo 5,51 iki 7,64 mg GAE/g S.M (žr. 9 lent.), o ABTS⁺ laisvųjų radikalų sujungimo geba ir ORAC vertės atitinkamai kito nuo 23,18 iki 34,28 (žr. 10 lent.) bei nuo 20,87 iki 49,25 mg TE/g S.M (žr. 11 lent.). Statistiškai reikšmingai minimalus TPC kiekis identifikuotas ‘Picolo’, o maksimalus – ‘Sidrabi’, ‘CRS-1’, ‘Regina’ ir ‘Pūrini’ veislių pluoštinėse kanapėse. Statistiškai reikšmingai minimali ABTS⁺ laisvųjų radikalų sujungimo geba identifikuota ‘Picolo’ ir ‘Grandi’, o maksimali – ‘CFX-1’ veislių pluoštinėse kanapėse. Statistiškai reikšmingai minimalios ORAC vertės nustatytos ‘Picolo’ ir ‘Grandi’, o maksimalios – ‘Pūrini’ veislių pluoštinėse kanapėse. Taigi, galima daryti prielaidą, kad didžiausiu antioksidaciniu aktyvumu pasižymėjo vandeniniai ekstraktai po HD, kurių kiekiai išreikšti pradinei sausiai žaliavai, gauti iš ‘Pūrini’ veislės pluoštinių kanapių.

Po HD kietos liekanos TPC kiekis varijavo nuo 0,82 iki 2,81 mg GAE/g S.M (žr. 9 lent.), o ABTS⁺ laisvųjų radikalų sujungimo geba ir ORAC vertės atitinkamai varijavo nuo 10,04 iki 27,83 (žr. 10 lent.) bei nuo 9,10 iki 21,96 mg TE/g S.M (žr. 11 lent.). Statistiškai reikšmingai mažiausia TPC ir ABTS⁺ laisvųjų radikalų sujungimo geba nustatyta ‘CFX-1’, o didžiausia – ‘Sidrabi’ veislių pluoštinėse kanapėse. Statistiškai reikšmingai mažiausios ORAC vertės nustatytos ‘CFX-1’, o didžiausios – ‘Finola’ veislių pluoštinėse kanapėse. Gauti rezultatai parodo, kad kietoje liekanoje po HD liko antioksidaciniu aktyvumu pasižyminčių junginių. Tikriausiai todėl, kad dalis antioksidantų yra stipriai surišti augalinėje matricoje ir yra netirpūs. Nepaisant to, efektyviausia TPC ir ORAC antioksidacinių aktyvumu pasižyminčių junginių ekstrakcija po HD nustatyta ‘CFX-1’ veislės pluoštinėse kanapėse, nes kietoje liekanoje atitinkamai rastas 7,5 ir 3,8 karto mažesnis antioksidantų kiekis lyginant su pradine žaliava. O efektyviausia ABTS⁺ antioksidacinių aktyvumu pasižyminčių junginių ekstrakcija po HD nustatyta ‘CFX-2’ veislės pluoštinėse kanapėse, nes kietoje liekanoje rastas 4,9 karto mažesnis antioksidantų kiekis lyginant su pradine žaliava.

12 lentelė. 'Finola' skirtingo vegetacijos periodo bendras fenolinių junginių kiekis (TPC) prieš ir po hidrodistiliacijos (HD)

Vegetacijos periodas	Augalinė žaliava	Prieš HD, mg GAE/g*	Po HD, vandeniniai ekstraktai, mg GAE/g ekstrakto	Po HD, vandeniniai ekstraktai, mg GAE/g*	Po HD, kieta liekana, mg GAE/g*
Prieš žydėjimą	Švieži lapai	–	_A 63,41 ± 1,19 ^d	_A 7,22 ± 0,14 ^b	_A 3,97 ± 0,02 ^a
	Džiovinti lapai	35,86 ± 0,53 ^e	₁ 60,18 ± 1,48 ^{cd}	_{1,2} 18,72 ± 0,52 ^e	₂ 7,15 ± 0,13 ^e
Žydėjimo metu	Švieži lapai	–	_C 77,59 ± 2,42 ^f	_A 6,07 ± 0,21 ^b	_A 4,18 ± 0,25 ^a
	Džiovinti lapai	27,30 ± 0,71 ^d	₂ 75,33 ± 0,27 ^{ef}	₂ 20,58 ± 0,23 ^f	₃ 7,66 ± 0,04 ^f
	Švieži žiedai	–	42,69 ± 3,77 ^a	3,51 ± 0,88 ^a	3,95 ± 0,26 ^a
	Džiovinti žiedai	10,35 ± 0,44 ^a	46,47 ± 1,14 ^b	11,31 ± 0,28 ^c	4,66 ± 0,03 ^b
Po žydėjimo (Estija)	Švieži lapai	–	_C 77,20 ± 5,17 ^f	_B 12,59 ± 2,50 ^c	_C 6,12 ± 0,10 ^d
	Džiovinti lapai	18,01 ± 0,35 ^c	₂ 73,27 ± 3,08 ^{ef}	₂ 20,43 ± 1,72 ^{ef}	₂ 7,16 ± 0,04 ^e
Po žydėjimo (Lietuva)	Švieži lapai	–	_B 70,90 ± 0,92 ^e	_A 6,73 ± 0,16 ^b	_B 4,69 ± 0,15 ^b
	Džiovinti lapai	16,13 ± 0,08 ^b	₁ 59,56 ± 0,35 ^c	₁ 16,41 ± 0,46 ^d	₁ 5,35 ± 0,01 ^c

*šviežiems lapams ir žiedams šviežioje medžiagoje, džiovintiems lapams ir žiedams sausoje medžiagoje

^{a,b} – reikšmės stulpeliuose tarp augalinės žaliavos ir vegetacijos periodo pažymėtos tomis pačiomis mažosiomis raidėmis pagal Fišerio LSD testą (P < 0,05) iš esmės nesiskiria

^{A,B} – reikšmės stulpeliuose tarp šviežių lapų bei vegetacijos periodo pažymėtos tomis pačiomis didžiosiomis raidėmis pagal Fišerio LSD testą (P < 0,05) iš esmės nesiskiria

^{1,2} – reikšmės stulpeliuose tarp džiovintų lapų bei vegetacijos periodo pažymėtos tuo pačiu skaičiumi pagal Fišerio LSD testą (P < 0,05) iš esmės nesiskiria

13 lentelė. 'Finola' skirtingo vegetacijos periodo ABTS⁺ laisvųjų radikalų sujungimo geba prieš ir po hidrodistiliacijos (HD)

Vegetacijos periodas	Augalinė žaliava	Prieš HD, mg TE/g*	Po HD, vandeniniai ekstraktai, mg TE/g ekstrakto	Po HD, vandeniniai ekstraktai, mg TE/g*	Po HD, kieta liekana, mg TE/g*
Prieš žydėjimą	Švieži lapai	–	_A 243,59 ± 7,76 ^{cd}	_A 27,70 ± 1,10 ^b	_B 34,48 ± 0,17 ^{bc}
	Džiovinti lapai	120,57 ± 1,62 ^d	₂ 234,82 ± 2,18 ^{bc}	₂ 73,13 ± 4,55 ^e	₁ 45,68 ± 1,36 ^{fg}
Žydėjimo metu	Švieži lapai	–	_B 302,07 ± 3,34 ^d	_A 23,64 ± 0,20 ^b	_A 25,80 ± 0,45 ^a
	Džiovinti lapai	111,00 ± 6,28 ^c	₄ 295,63 ± 9,41 ^d	₂ 80,75 ± 1,36 ^f	₁ 47,46 ± 0,32 ^g
	Švieži žiedai	–	151,34 ± 10,35 ^a	12,39 ± 2,83 ^a	40,15 ± 0,92 ^{de}
	Džiovinti žiedai	66,98 ± 4,61 ^a	155,40 ± 1,84 ^a	37,82 ± 0,45 ^c	42,52 ± 0,26 ^{ef}
Po žydėjimo (Estija)	Švieži lapai	–	_A 252,06 ± 4,96 ^{cd}	_B 41,04 ± 4,43 ^c	_B 37,34 ± 0,63 ^{cd}
	Džiovinti lapai	111,31 ± 0,86 ^c	₃ 259,74 ± 4,54 ^{cd}	₂ 72,53 ± 4,12 ^e	₂ 52,49 ± 1,95 ^h
Po žydėjimo (Lietuva)	Švieži lapai	–	_A 257,66 ± 13,58 ^{cd}	_A 24,46 ± 1,54 ^b	_B 33,61 ± 3,16 ^b
	Džiovinti lapai	78,65 ± 2,84 ^b	₁ 188,75 ± 2,63 ^{ab}	₁ 52,33 ± 0,58 ^d	₁ 45,54 ± 1,87 ^{fg}

*šviežiems lapams ir žiedams šviežioje medžiagoje, džiovintiems lapams ir žiedams sausoje medžiagoje

^{a,b} – reikšmės stulpeliuose tarp augalinės žaliavos ir vegetacijos periodo pažymėtos tomis pačiomis mažosiomis raidėmis pagal Fišerio LSD testą (P < 0,05) iš esmės nesiskiria

^{A,B} – reikšmės stulpeliuose tarp šviežių lapų bei vegetacijos periodo pažymėtos tomis pačiomis didžiosiomis raidėmis pagal Fišerio LSD testą (P < 0,05) iš esmės nesiskiria

^{1,2} – reikšmės stulpeliuose tarp džiovintų lapų bei vegetacijos periodo pažymėtos tuo pačiu skaičiumi pagal Fišerio LSD testą (P < 0,05) iš esmės nesiskiria

14 lentelė. ‘Finola’ skirtingo vegetacijos periodo deguonies radikalų absorbcijos pajėgumo nustatymas (ORAC) prieš ir po hidrodistiliacijos (HD)

Vegetacijos periodas	Augalinė žaliava	Prieš HD, mg TE/g*	Po HD, vandeniniai ekstraktai, mg TE/g ekstrakto	Po HD, vandeniniai ekstraktai, mg TE/g*	Po HD, kieta liekana, mg TE/g*
Prieš žydėjimą	Švieži lapai	–	_A 377,78 ± 6,98 ^e	_A 42,95 ± 1,04 ^b	_B 33,13 ± 0,17 ^c
	Džiovinti lapai	131,01 ± 3,74 ^c	₁ 302,93 ± 2,88 ^c	₁ 95,33 ± 7,41 ^e	₁ 39,10 ± 1,24 ^d
Žydėjimo metu	Švieži lapai	–	_C 466,02 ± 7,84 ^g	_A 36,66 ± 0,24 ^b	_A 27,54 ± 0,23 ^b
	Džiovinti lapai	103,70 ± 0,67 ^b	₄ 469,87 ± 0,17 ^g	₃ 128,37 ± 1,88 ^g	_{2,3} 49,34 ± 1,64 ^f
	Švieži žiedai	–	191,51 ± 4,26 ^a	15,66 ± 2,81 ^a	20,47 ± 0,72 ^a
	Džiovinti žiedai	55,59 ± 2,59 ^a	205,81 ± 3,45 ^b	50,10 ± 0,84 ^c	25,82 ± 0,16 ^b
Po žydėjimo (Estija)	Švieži lapai	–	_C 471,34 ± 6,01 ^g	_B 78,84 ± 5,82 ^d	_C 39,50 ± 2,46 ^{de}
	Džiovinti lapai	123,51 ± 4,68 ^c	₃ 406,64 ± 5,58 ^f	₂ 113,54 ± 6,01 ^f	₃ 49,97 ± 1,93 ^f
Po žydėjimo (Lietuva)	Švieži lapai	–	_B 399,22 ± 6,50 ^f	_A 37,89 ± 1,01 ^b	_B 32,52 ± 1,11 ^c
	Džiovinti lapai	101,70 ± 7,14 ^b	₂ 332,87 ± 8,08 ^d	₁ 92,46 ± 0,03 ^e	_{1,2} 42,94 ± 3,67 ^e

*šviežiems lapams ir žiedams šviežioje medžiagoje, džiovintiems lapams ir žiedams sausoje medžiagoje

^{a,b} – reikšmės stulpeliuose tarp augalinės žaliavos ir vegetacijos periodo pažymėtos tomis pačiomis mažosiomis raidėmis pagal Fišerio LSD testą ($P < 0,05$) iš esmės nesiskiria

^{A,B} – reikšmės stulpeliuose tarp šviežių lapų bei vegetacijos periodo pažymėtos tomis pačiomis didžiosiomis raidėmis pagal Fišerio LSD testą ($P < 0,05$) iš esmės nesiskiria

^{1,2} – reikšmės stulpeliuose tarp džiovintų lapų bei vegetacijos periodo pažymėtos tuo pačiu skaičiumi pagal Fišerio LSD testą ($P < 0,05$) iš esmės nesiskiria

‘Finola’ veislės TPC kiekis priklausomai nuo vegetacijos periodo ir anatominės augalo dalies prieš HD varijavo nuo 10,35 iki 35,86 mg GAE/g S.M (žr. 12 lent.), o ABTS⁺⁺ laisvųjų radikalų sujungimo geba ir ORAC vertės atitinkamai kito nuo 66,98 iki 120,57 (žr. 13 lent.) ir nuo 55,59 iki 131,01 mg TE/g S.M (žr. 14 lent.). Statistiškai reikšmingai mažiausias antioksidacinis aktyvumas visose modelinėse sistemose nustatytas džiovintuose žieduose žydėjimo metu, o didžiausias – džiovintuose lapuose prieš žydėjimą.

Po HD vandeninių ekstraktų TPC kiekis priklausomai nuo vegetacijos periodo ir anatominės augalo dalies bei apdorojimo būdo varijavo nuo 42,69 iki 77,59 mg GAE/g ekstrakto (žr. 12 lent.), o ABTS⁺⁺ laisvųjų radikalų sujungimo geba ir ORAC vertės atitinkamai kito nuo 151,34 iki 302,07 (žr. 13 lent.) ir nuo 191,51 iki 471,34 mg TE/g ekstrakto (žr. 14 lent.). Šviežių ir džiovintų žiedų vandeninio ekstrakto antioksidacinis aktyvumas nustatytas statistiškai reikšmingai mažesnis nei šviežių ar džiovintų lapų. Statistiškai reikšmingai didžiausias TPC kiekis šviežiuose ir džiovintuose lapuose nustatytas žydėjimo metu ir po žydėjimo (Estija). Statistiškai reikšmingai maksimali ABTS⁺⁺ laisvųjų radikalų sujungimo geba šviežiuose ir džiovintuose lapuose iširta žydėjimo metu. Statistiškai reikšmingai didžiausios ORAC vertės šviežiuose lapuose nustatytos žydėjimo metu ir po žydėjimo (Estija), o džiovintuose lapuose – tik žydėjimo metu. Gauti rezultatai rodo, kad didžiausiu antioksidaciniu aktyvumu pasižymėjo vandeniniai ekstraktai gauti po HD iš šviežių lapų žydėjimo metu ir po žydėjimo (Estija) bei džiovintų lapų žydėjimo metu.

Po HD vandeninių ekstraktų, išreikštų pradinei sausai žaliavai, TPC kiekis priklausomai nuo vegetacijos periodo ir anatominės augalo dalies bei apdorojimo būdo varijavo nuo 3,51 iki 20,58 mg GAE/g S.M (žr. 12 lent.), o ABTS⁺⁺ laisvųjų radikalų sujungimo geba ir ORAC vertės atitinkamai kito nuo 12,39 iki 80,75 (žr. 13 lent.) ir nuo 15,66 iki 128,37 mg TE/g S.M (žr. 14 lent.). Džiovintų mėginių antioksidacinis aktyvumas yra didesnis nei šviežio mėginio. Taip yra dėl padidėjusios

produkto koncentracijos džiovavimo proceso metu, išgarinus vandenį. Dėl šios priežasties buvo atliktos kelios statistinės analizės siekiant palyginti bendrai ir atskirai džiovintus ir šviežius mėginius. Šviežių ir džiovintų žiedų vandeninio ekstrakto išreikšto pradiniai sausi žaliavai antioksidacinis aktyvumas nustatytas statistiškai reikšmingai mažesnis nei šviežių ar džiovintų lapų. Statistiškai reikšmingai didžiausias antioksidacinis aktyvumas šviežiuose lapuose visose modelinėse sistemose identifikuotas po žydėjimo (Estija), o džiovintuose lapuose kito priklausomai nuo antioksidacinio aktyvumo įvertinimo metodo. Pavyzdžiui, statistiškai reikšmingai didžiausias TPC kiekis džiovintuose lapuose nustatytas žydėjimo metu ir po žydėjimo (Estija), ABTS⁺⁺ laisvųjų radikalų sujungimo geba – prieš žydėjimą, žydėjimo metu ir po žydėjimo (Estija), o ORAC vertės – tik žydėjimo metu.

Po HD kietos liekanos TPC kiekis priklausomai nuo vegetacijos periodo ir anatominės augalo dalies bei apdorojimo būdo varijavo nuo 3,95 iki 7,66 mg GAE/g S.M (žr. 12 lent.), o ABTS⁺⁺ laisvųjų radikalų sujungimo geba ir ORAC vertės atitinkamai varijavo nuo 25,80 iki 52,49 (žr. 13 lent.) ir nuo 20,47 iki 49,97 mg TE/g S.M (žr. 14 lent.). Šviežių ir džiovintų žiedų kietos liekanos antioksidacinis aktyvumas statistiškai reikšmingai mažesnis nei šviežių ar džiovintų lapų nustatytas tik ORAC modelinėje sistemoje, o TPC modelinėje sistemoje šis skirtumas pastebėtas tik džiovintuose žieduose. Statistiškai reikšmingai mažiausias TPC kiekis šviežiuose lapuose nustatytas prieš žydėjimą ir žydėjimo metu, o džiovintuose lapuose – po žydėjimo (Lietuva). Statistiškai reikšmingai minimali ABTS⁺⁺ laisvųjų radikalų sujungimo geba ir ORAC vertės šviežiuose lapuose nustatytos žydėjimo metu, o džiovintuose lapuose skyrėsi priklausomai nuo modelinės sistemos. Pavyzdžiui, ABTS⁺⁺ modelinėje sistemoje nustatyta prieš žydėjimą, žydėjimo metu ir po žydėjimo (Lietuva), o ORAC modelinėje sistemoje – tik prieš žydėjimą. Efektyviausia antioksidacinių aktyvumu pasižyminčių junginių ekstrakcija po HD džiovintuose lapuose nustatyta prieš žydėjimą, nes kietoje liekanoje atitinkamai rastos 5,0 ir 2,6 bei 3,4 karto mažesnės TPC, ABTS⁺⁺ ir ORAC vertės lyginant su pradine žaliava.

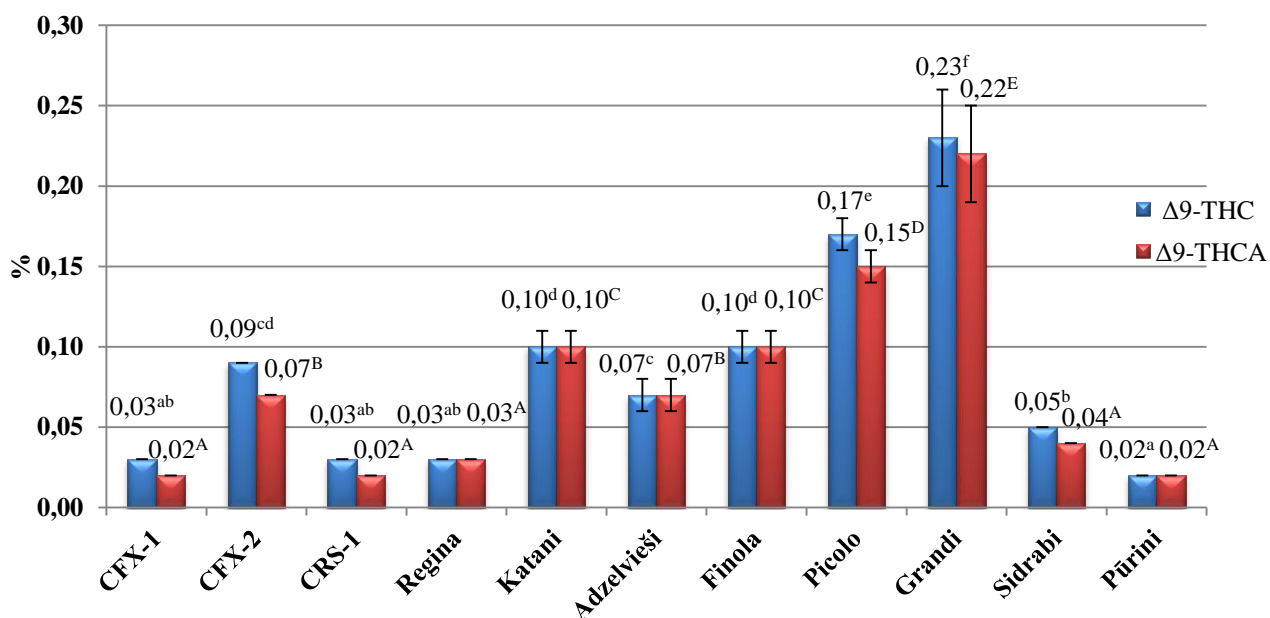
Remiantis moksline literatūra, ištyrus lapus, žiedus, stiebus ir šaknis, didžiausias antioksidacinis aktyvumas augaluose buvo nustatytas lapuose jų vystymosi pradžioje. Didelė polifenolinių junginių koncentracija ankstyvųjų lapų augimo stadijos metu yra susijusi su tuo metu vykstančiu intensyviu ląstelių dalijimusi. Kai lapų vystymasis ir augimas baigiasi bei prasideda žiedų formavimasis, fenoliniai junginiai augalo rėtiniais indais yra gabenami iš augalo lapų į žiedus. Fenolinių junginių kiekis žieduose daugiausia priklauso nuo endogeninės biosintezės ir transportavimo iš lapų. Antioksidaciniu aktyvumu pasižyminčių junginių koncentracija mažėja priklausomai nuo augalo amžiaus, tačiau įtakos taip pat gali turėti ir sezoniskumas. Pavyzdžiui, nustatytas teigiamas ryšys tarp saulės spinduliuotės ir fenolinių junginių susidarymo augaluose [191].

Apibendrinus tyrimo duomenis galima daryti išvadą, kad HD metu gauto vandeninio ekstrakto antioksidacinis aktyvumas apskaičiuotas sausi žaliavai yra beveik lygus nustatytam pradinėje žaliavoje, o tai parodo labai didelį ekstrakcijos efektyvumą. Atliekant HD gaunamas ne tik pagrindinis EO produktas, tačiau ir ne ką mažiau vertingi šalutiniai produktai – vandeninis ekstraktas ir kieta liekana. Jie gali būti perdirbti siekiant išgauti natūralius antioksidantus ir kitus bioaktyvius junginius. Pavyzdžiui, polifenolinis ekstraktas gali būti naudojamas mėsos pramonėje,

kad slopintų lipidų oksidaciją, kuri turi įtakos sensorinių savybių (aromato, spalvos) pokyčiams bei produkto tinkamumo vartoti terminui [192].

3.5 Fitokanabinoidų ir jų rūgščių kiekybinė ir kokybinė analizė

Atlikta *Cannabis sativa* L. 11-os skirtingų veislių pradinės žaliavos fitokanabinoidų ir jų rūgščių (Δ^9 -THC, Δ^9 -THCA, CBD, CBDA) kiekybinė ir kokybinė analizė iš džiovintų susmulkintų kanapių lapų. Pagal (ES) Nr. 1307/2013 reglamentą, valstybėse narėse leidžiamos auginti kanapių veislės su žemu (ne daugiau, kaip 0,2 %) Δ^9 -THC kiekiu, kadangi šis fitokanabinoidas pasižymi psichiką veikiančiu aktyvumu [193]. Atlikus tyrimą, statistiškai reikšmingai mažiausias Δ^9 -THC kiekis nustatytas ‘Pūrini’ (0,02 %), o didžiausias – ‘Grandi’ (0,23 %) veislių pluoštinėse kanapėse (žr. 17 pav.). Šio fitokanabinoido rūgšties pirmtako – Δ^9 -THCA kiekis buvo panašus ir varijavo nuo 0,02 iki 0,22 % priklausomai nuo pluoštinių kanapių veislės. Statistiškai reikšmingai didžiausias Δ^9 -THCA kiekis taip pat identifikuotas ‘Grandi’ veislės pluoštinėse kanapėse. Visose 11 veislių, išskyrus ‘Grandi’, identifikuotas mažesnis Δ^9 -THC kiekis nei nustatyta leidžiama norma (ES) Nr. 1307/2013 reglamente.



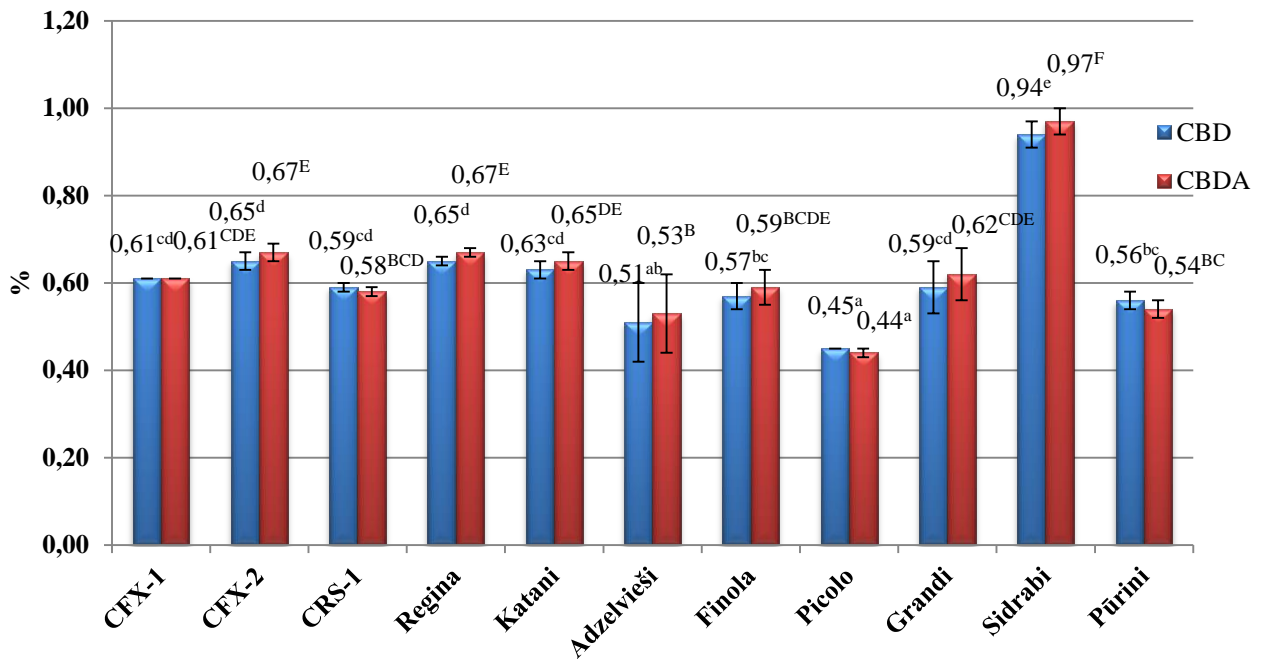
17 pav. Skirtingų veislių delta-9-tetrahydrokanabinolio (Δ^9 -THC) ir delta-9-tetrahydrokanabinolio rūgšties (Δ^9 -THCA) kiekis, %

^{a,b} – reikšmės stulpeliuose tarp Δ^9 -THC pažymėtos tomis pačiomis mažosiomis raidėmis pagal Fišerio LSD testą ($P < 0,05$) iš esmės nesiskiria

^{A,B} – reikšmės stulpeliuose tarp Δ^9 -THCA pažymėtos tomis pačiomis didžiosiomis raidėmis pagal Fišerio LSD testą ($P < 0,05$) iš esmės nesiskiria

CBD ir jo rūgšties pirmtakas CBDA yra labiausiai paplitę fitokanabinoidai pluoštinėse kanapėse [194]. CBD ir CBDA kiekis pluoštinių kanapių žaliavoje buvo didesnis nei Δ^9 -THC ir Δ^9 -THCA, atitinkamai nuo 4,1 iki 22,5 bei nuo 4,4 iki 22,0 kartų priklausomai nuo veislės. Statistiškai reikšmingai minimalus CBD ir CBDA kiekis nustatytas ‘Picolo’, o maksimalus – ‘Sidrabi’ veislių pluoštinėse kanapėse ir atitinkamai sudarė 0,45 ir 0,44 bei 0,94 ir 0,97 % (žr. 18 pav.). Kaip žinoma,

CBD neveikia psichikos ir pasižymi įvairiomis farmakologinėmis savybėmis, tačiau diskutuojama ar šio fitokanabinoido koncentratai yra tinkami maisto ingredientai. Be to, maisto produktai turintys didesnę CBD kiekį nei natūraliai augaluose esantis jo kiekis, privalo būti reglamentuojami pagal naujų maisto produktų reglamentą (ES) 2015/2283 ir gauti leidimą prekiauti rinkoje. Suteikęs leidimą visi CBD ekstraktai, atitinkantys patvirtinto produkto specifikacijas, gali būti naudojami suaugusiems žmonėms skirtuose maisto papilduose, kurių paros norma yra iki 130 mg arba 1,86 mg/kg kūno svorio [195].



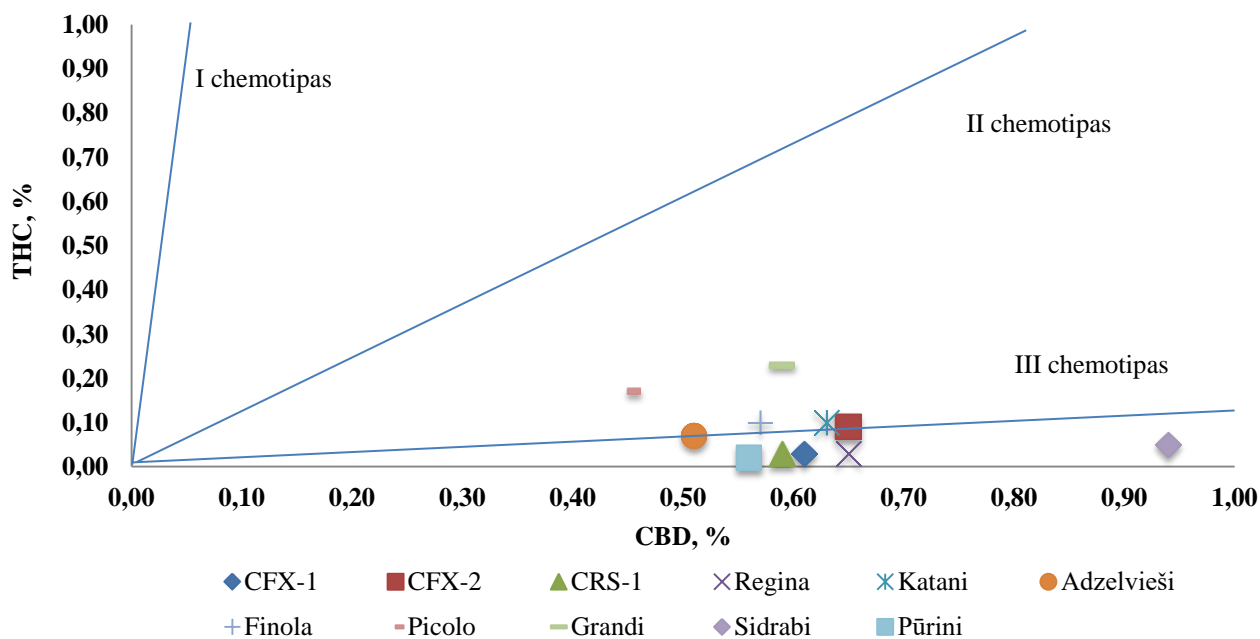
18 pav. Skirtingų veislių kanabidiolio (CBD) ir kanabidiolio rūgšties (CBDA) kiekis, %

^{a,b} – reikšmės stulpeliuose tarp CBD pažymėtos tomis pačiomis mažosiomis raidėmis pagal Fišerio LSD testą ($P < 0,05$) iš esmės nesiskiria

^{A,B} – reikšmės stulpeliuose tarp CBDA pažymėtos tomis pačiomis didžiosiomis raidėmis pagal Fišerio LSD testą ($P < 0,05$) iš esmės nesiskiria

Analizuojant literatūros duomenis K. Mechtler'is ir kt. nustatė, kad Δ^9 -THC kiekis pluoštinių kanapių lapuose varijavo nuo 0,07 iki 0,38 %, o CBD kiekis – nuo 1,25 iki 1,73 % priklausomai nuo veislės ('Fasamo', 'Beniko', 'Bialobrzeskie', 'Felina 34', 'Kompolti', 'Hungarian provenance') [196]. Lyginant literatūroje pateikiamus rezultatus su atlikto tyrimo rezultatais, galima daryti išvadą, kad Δ^9 -THC ir CBD kiekio tendencija pluoštinių kanapių lapuose buvo panaši, nors literatūroje nurodytas jų kiekis buvo didesnis. Šiuos skirtumus galime paaiškinti tuo, kad tyrimams buvo pasirinktos skirtingos veislės, turinčios skirtingus genus, taip pat įtakos galėjo turėti žaliavos auginimo, džiovinimo ir laikymo sąlygos.

Δ^9 -THC ir CBD santykis rodo chemotipo indeksą, pagal kurį kanapės gali būti klasifikuojamos į narkotinio (I chemotipas > 1 , II chemotipas ≈ 1) ir pluoštinio (III chemotipas < 1) tipo kanapes (žr. 2 lent.) [51]. Iš gautų tyrimo rezultatų, galima daryti išvadą, kad visos 11 veislių priklauso pluoštinio chemotipo kanapėms, kadangi jų Δ^9 -THC ir CBD santykis nustatytas mažesnis nei 1 (žr. 19 pav.).



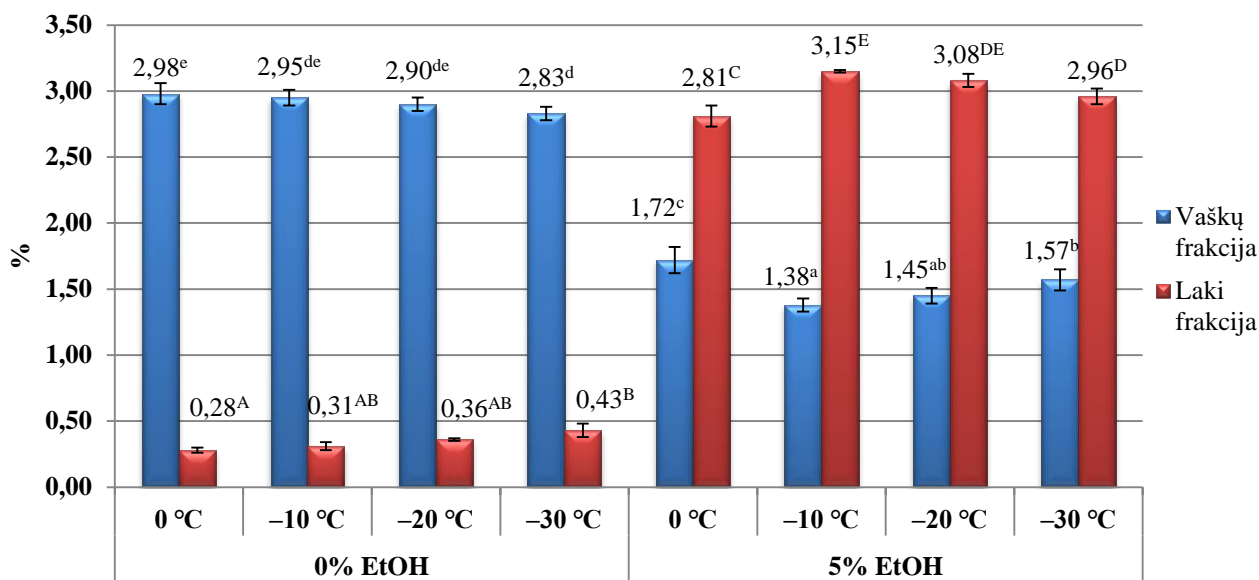
19 pav. Skirtingų kanapių veislių chemotipo indeksas (Δ^9 -THC/CBD)

3.6 Ekstraktų, išfrakcionuotų superkritiniu anglies dvideginiu (SFE-CO₂), kiekybinė ir kokybinė analizė

Atlikus 'Finola' veislės kanapių lapų frakcionavimą SFE-CO₂ naudojant skirtingą šaldymo temperatūrą pirmajame separatoriuje (-30–0 °C) išskirtos dvi frakcijos: vaškų ir lakioji (žr. 20 pav.). Nenaudojant organinio tirpiklio (0 % EtOH) vaškų frakcijos išeiga kito nuo 2,83 iki 2,98 %, o lakios frakcijos – nuo 0,28 iki 0,43 % priklausomai nuo šaldymo temperatūros. Vaškų frakcijos išeiga buvo didesnė nuo 6,6 iki 10,6 karto lyginant su lakios frakcijos išeiga. Naudojant organinį tirpiklį (5 % EtOH) vaškų frakcijos išeiga varijavo nuo 1,38 iki 1,72 %, o lakios frakcijos – nuo 2,81 iki 3,15 % priklausomai nuo šaldymo temperatūros. Lakios frakcijos išeiga buvo didesnė nuo 1,6 iki 2,3 karto lyginant su vaškų frakcijos išeiga. Statistiškai reikšmingai mažiausia vaškų frakcijos išeiga nustatyta naudojant tirpiklį (5 % EtOH) -10 °C, o didžiausia – nenaudojant tirpiklio (0 % EtOH) 0 °C temperatūroje. Statistiškai reikšmingai mažiausia lakios frakcijos išeiga nustatyta nenaudojant tirpiklio (0 % EtOH) 0 °C, o didžiausia – naudojant tirpiklį (5 % EtOH) -10 °C temperatūroje. Kadangi ekstraktų frakcionavimo tikslas yra sukcentruoti lakiuosius komponentus ir atskirti mažiau naudingus vaškus, galima daryti išvadą, kad efektyviausia ekstrakcija gauta naudojant 5 % EtOH -10 °C temperatūroje, nes pritaikius šias sąlygas buvo gauta didžiausia lakios ir mažiausia vaškų frakcijos išeiga.

Siekiant pagerinti lakiųjų junginių selektyvumą lyginant su didesnės molekulinės masės junginiais yra parenkamas žemas slėgis (< 10 MPa). E. Sthal'as ir kt. pirmieji pasiūlė naudoti 0 °C temperatūros CO₂ superkritinį skystį siekiant atskirti vaškus ir terpenus iš daržovių matricos, kadangi jų tirpumas tokioje temperatūroje yra skirtingas. Nustatyta, kad vaškai yra netirpūs esant žemesnei ar artimai 0 °C temperatūrai, o terpenai šioje temperatūroje priešingai nei vaškai, maišosi su CO₂ superkritiniu skysčiu. Dėl šios priežasties, vaškai kurių anglies atomų skaičius yra didesnis

nei C₂₅ yra netirpūs ir superkritinės ekstrakcijos metu nusėda pirmajame separatoriuje (S₁), o lakūs komponentai surenkami antrajame separatoriuje (S₂) [197]. Literatūroje panašaus pobūdžio eksperimentų atliktų su pluoštinių kanapių lapų žaliava nebuvo rasta, tačiau G. Vincente ir kt. ištyrė, kad frakcionuojant rozmarinų lapų ekstraktą, lakių komponentų išėiga S₂ separatoriuje buvo nustatyta 2,61 karto didesnė nei vaškų, esančių S₁ separatoriuje [198].



20 pav. ‘Finola’ ekstraktų, išfrakcionuotų superkritiniu anglies dvideginiu (SFE-CO₂), išėigos %

^{a,b} – reikšmės stulpeliuose tarp vaškų frakcijos pažymėtos tomis pačiomis mažosiomis raidėmis pagal Fišerio LSD testą ($P < 0,05$) iš esmės nesiskiria

^{A,B} – reikšmės stulpeliuose tarp lakios frakcijos pažymėtos tomis pačiomis didžiosiomis raidėmis pagal Fišerio LSD testą ($P < 0,05$) iš esmės nesiskiria

Atlikus ‘Finola’ veislės ekstraktų po SFE-CO₂ frakcionavimo su šaldymu kiekybinę ir kokybinę analizę GC-FID ir GC-TOF/MS metodais, detalai buvo identifikuoti visi 54 cheminiai komponentai (žr. 6 priedą). Statistiškai buvo vertinami tik tie komponentai, kurių koncentracija ekstraktoje buvo ne mažesnė kaip 1 % (žr. 15 lent.) bei vėliau atitinkamai paskaičiuoti pagrindinių komponentų absoliutūs kiekiai mg/kg žaliavos (žr. 7 priedą). Pagrindinis SFE-CO₂ ekstrakcijos privalumas lyginant su HD yra terminio ir hidrolizės poveikio sumažinimas, o tai leidžia išvengti termolabilių junginių skilimo ir vandenyje tirpių junginių hidrolizės [197]. Ekstraktuose po SFE-CO₂ frakcionavimo identifikuota 16 pagrindinių komponentų: E-kariofilenas (iki 13,22 %), E-β-farnesenas (iki 1,99 %), α-humulenas (iki 3,81 %), β-selinenas (iki 1,66 %), α-selinenas (iki 1,38 %), kariofileno oksidas (iki 2,61 %), fitolis (iki 7,01 %), E-fitolio acetatas (iki 2,22 %), CBD (19,43–64,72 %), Δ⁹-THC (2,01–9,57 %), heptakozanas (0,31–6,36 %), oktakozanas (0,14–3,40 %), nonakozanas (1,22–63,75 %), triakontanas (0,07–1,97 %), untriakontanas (iki 8,92 %) ir α-tokoferolis (iki 1,52 %). Gauti rezultatai rodo, kad šaldymo temperatūra bei organinio tirpiklio – etanolio (5 % EtOH) panaudojimas turėjo statistiškai reikšminės įtakos procentinei komponentų sudėčiai. Frakcionavimo metu naudojant 5 % EtOH daugumoje atvejų nebuvo nustatytas visai arba buvo identifikuotas mažesnis lakiųjų komponentų ir kanabinoidų kiekis vaškų frakcijoje lyginant su lakiąja, o alkanų kiekis priešingai, buvo didesnis vaškų frakcijoje lyginant su lakiąja.

15 lentelė. 'Finola' ekstraktų, išfrakcionuotų superkrižiniu anglies dvideginiu (SFE-CO₂), pagrindinių komponentų cheminė sudėtis, %

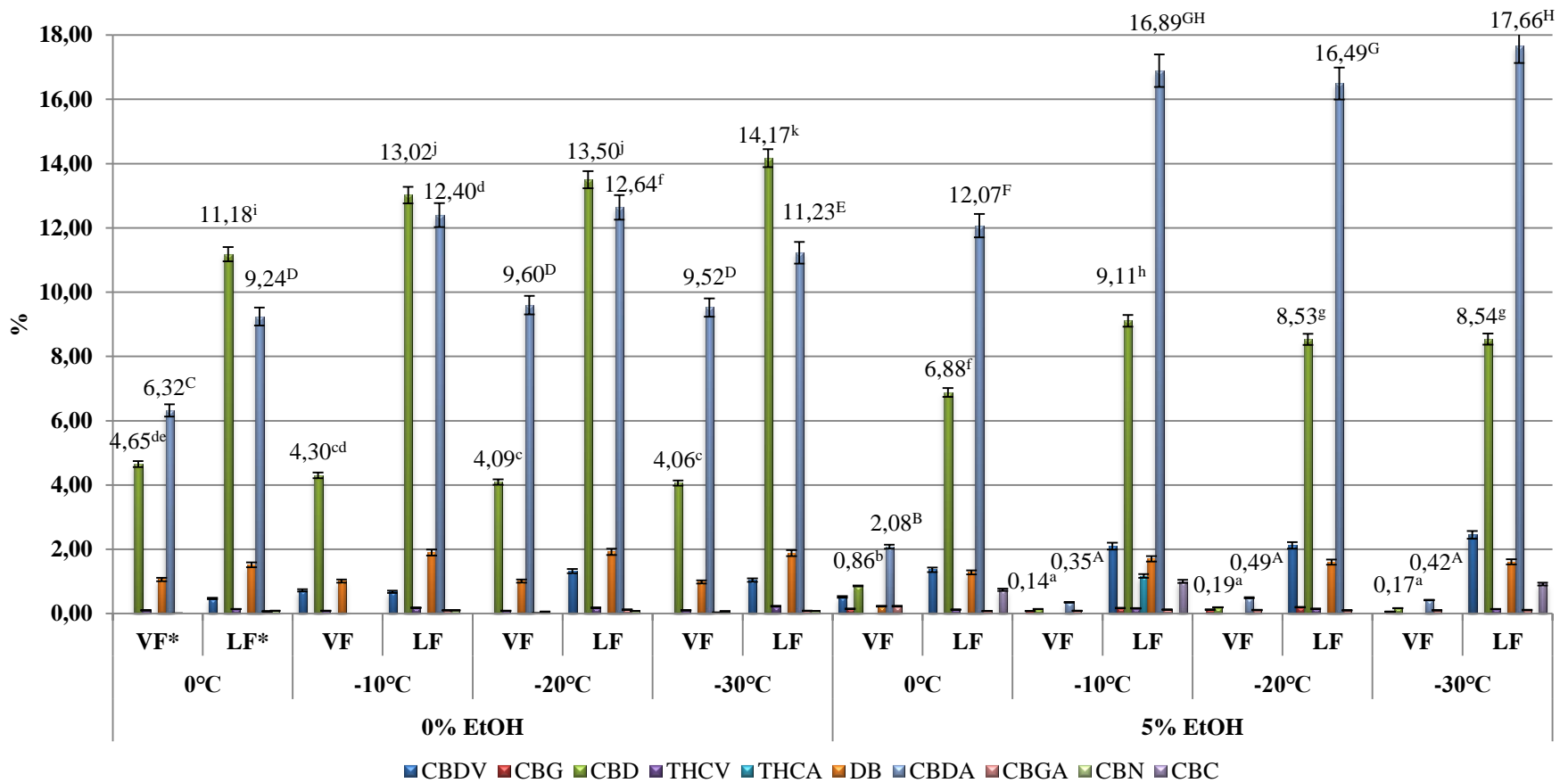
Junginys ^b	KI ^a	0% EtOH								5% EtOH							
		0°C		-10°C		-20°C		-30°C		0°C		-10°C		-20°C		-30°C	
		VF*	LF*	VF	LF	VF	LF	VF	LF	VF	LF	VF	LF	VF	LF	VF	LF
E-Kariofilenas	1430	4,46±0,05^a	7,12±1,00^{cd}	3,55±0,22^a	9,29±0,26^{fg}	6,09±0,61^{bc}	7,42±0,06^{cde}	4,56±0,30^{ab}	10,54±0,33^{gh}	–	11,89±0,42^{hi}	–	13,22±3,11ⁱ	–	8,85±0,27^{ef}	–	8,72±0,61^{def}
E-β-Farnesenas	1463	0,46±0,02 ^b	1,42±0,16 ^c	0,28±0,03 ^a	1,84±0,07 ^{fg}	0,75±0,11 ^c	1,44±0,01 ^e	0,26±0,01 ^a	1,99±0,05 ^g	–	1,72±0,22 ^f	–	1,23±0,17 ^d	–	1,13±0,04 ^d	–	1,07±0,05 ^d
α-Humulenas	1465	1,35±0,02 ^a	3,08±0,38 ^{def}	1,11±0,05 ^a	3,30±0,18 ^{fg}	1,81±0,18 ^b	2,56±0,01 ^c	1,77±0,14 ^b	3,56±0,12 ^{gh}	–	3,81±0,28 ^h	–	3,13±0,14 ^{ef}	–	2,79±0,12 ^{cd}	–	2,93±0,08 ^{de}
β-Selinenas	1496	0,57±0,10 ^b	1,46±0,17 ^f	0,47±0,12 ^{ab}	1,50±0,10 ^{fg}	0,82±0,15 ^c	1,22±0,06 ^{de}	0,34±0,06 ^a	1,66±0,02 ^g	–	1,45±0,12 ^f	–	1,25±0,11 ^e	–	1,10±0,02 ^{de}	–	1,08±0,07 ^d
α-Selinenas	1506	0,40±0,06 ^b	1,25±0,13 ^{gh}	0,34±0,08 ^{ab}	1,28±0,07 ^{hi}	0,56±0,10 ^c	1,01±0,05 ^f	0,28±0,06 ^a	1,38±0,01 ⁱ	–	1,15±0,08 ^g	–	0,98±0,02 ^{ef}	–	0,86±0,04 ^{de}	–	0,80±0,07 ^d
Kariofileno oksidas	1597	0,85±0,02 ^{bc}	2,61±0,28 ^h	0,70±0,16 ^{ab}	2,16±0,10 ^g	0,97±0,06 ^{cd}	1,85±0,06 ^f	0,53±0,15 ^a	2,44±0,16 ^h	–	1,39±0,16 ^e	–	1,78±0,13 ^f	–	1,21±0,06 ^{de}	–	1,26±0,13 ^e
Fitolis	2120	3,71±0,22^{cd}	6,89±0,48^g	4,13±0,23^{de}	5,94±0,22^f	3,74±0,04^{cd}	6,02±0,18^f	4,42±0,22^e	7,01±0,21^g	1,32±0,26^a	2,77±0,17^b	–	4,06±0,36^{de}	–	3,40±0,19^c	–	4,04±0,27^{de}
E-Fitolio acetatas	2247	1,60±0,05 ^a	1,91±0,05 ^d	1,76±0,07 ^{bc}	1,83±0,04 ^{cd}	1,68±0,08 ^{ab}	1,89±0,06 ^d	1,75±0,13 ^{bc}	1,83±0,04 ^{cd}	1,70±0,12 ^{ab}	1,76±0,12 ^{bc}	–	2,22±0,18 ^f	–	2,05±0,13 ^e	–	2,16±0,06 ^{ef}
CBD	2462	52,27±0,62^{ef}	52,99±0,24^{efg}	54,38±0,49^g	49,03±0,79^d	51,85±0,55^{ef}	51,80±0,30^{ef}	53,46±0,81^{fg}	46,03±0,29^c	60,57±1,44^h	53,30±1,47^{efg}	19,43±0,56^a	64,72±0,08ⁱ	24,11±0,07^b	61,44±1,70^h	20,61±1,32^a	61,01±0,81^h
Δ ⁹ -THC	2561	7,58±0,33 ^f	4,86±0,40 ^d	8,34±0,26 ^g	4,86±0,06 ^d	7,59±0,25 ^f	4,72±0,60 ^d	9,57±0,34 ^h	4,06±0,33 ^c	8,42±0,14 ^g	5,14±0,38 ^d	2,01±0,08 ^a	6,03±0,02 ^e	3,32±0,00 ^b	6,15±0,18 ^e	3,02±0,29 ^b	6,19±0,21 ^e
Heptakozanas	2700	1,31±0,06^g	0,84±0,07^{de}	1,19±0,05^{fg}	0,60±0,02^{bcd}	0,99±0,06^{ef}	0,70±0,07^{cd}	1,32±0,07^g	0,67±0,07^{cd}	1,10±0,09^{efg}	0,57±0,05^{abcd}	4,34±0,48^h	0,45±0,09^{abc}	6,36±0,75^j	0,38±0,02^{ab}	5,81±0,27ⁱ	0,31±0,02^a
Oktakozanas	2800	0,27±0,03 ^a	0,14±0,02 ^a	0,26±0,00 ^a	0,25±0,02 ^a	0,33±0,09 ^a	0,27±0,04 ^a	0,45±0,04 ^a	0,22±0,00 ^a	3,40±0,24 ^c	0,23±0,03 ^a	2,60±0,47 ^b	0,36±0,02 ^a	3,14±0,00 ^c	0,35±0,00 ^a	3,24±0,49 ^c	0,38±0,00 ^a
Nonakozanas	2900	9,70±0,35^{ef}	3,47±0,02^b	7,66±0,09^{cd}	1,94±0,08^{ab}	7,23±0,68^c	2,89±0,01^{ab}	8,85±0,44^{de}	2,44±0,43^{ab}	10,57±0,50^f	3,51±0,12^b	55,60±2,71^h	1,52±0,13^a	63,75±4,28ⁱ	1,47±0,10^a	50,49±0,04^g	1,22±0,14^a
Triakontanas	3000	0,34±0,02 ^b	0,11±0,01 ^a	0,23±0,00 ^{ab}	0,11±0,01 ^a	0,23±0,03 ^{ab}	0,08±0,01 ^a	0,22±0,01 ^{ab}	0,13±0,00 ^a	1,74±0,18 ^c	0,12±0,00 ^a	1,82±0,09 ^{cd}	0,13±0,00 ^a	1,97±0,46 ^d	0,09±0,00 ^a	1,81±0,12 ^{cd}	0,07±0,00 ^a
Untriakontanas	3100	0,47±0,07^b	0,23±0,05^{ab}	0,46±0,04^{ab}	0,23±0,06^{ab}	0,31±0,04^{ab}	0,32±0,00^{ab}	0,32±0,00^{ab}	0,19±0,02^{ab}	–	0,20±0,00^{ab}	8,92±0,42^d	0,28±0,05^{ab}	8,63±0,03^d	0,14±0,02^a	8,19±0,48^c	0,07±0,00^a
α-Tokoferolis	3104	1,52±0,09 ^g	0,34±0,07 ^{bc}	1,16±0,04 ^{ef}	0,17±0,03 ^a	1,21±0,15 ^f	0,25±0,06 ^{ab}	1,39±0,11 ^g	0,18±0,01 ^a	–	0,46±0,08 ^c	–	1,03±0,08 ^e	–	0,66±0,05 ^d	–	0,68±0,13 ^d
Bendras seskviterpenų kiekis (%)		8,09±0,05 ^b	16,94±0,35 ^e	6,45±0,11 ^a	19,37±0,13 ^f	11,00±0,20 ^c	15,50±0,04 ^d	7,74±0,12 ^b	21,57±0,12 ^g	–	21,41±0,21 ^g	–	21,59±0,61 ^g	–	15,94±0,09 ^d	–	15,86±0,17 ^d
Bendras kanabinoidų kiekis (%)		59,85±0,48 ⁱ	57,85±0,32 ^j	62,72±0,38 ^j	53,89±0,43 ^e	59,44±0,40 ^{hi}	56,52±0,45 ^f	63,03±0,58 ^j	50,09±0,31 ^d	68,99±0,79 ^l	58,44±0,93 ^{gh}	21,44±0,32 ^a	70,75±0,05 ^m	27,43±0,04 ^c	67,59±0,94 ^k	23,63±0,81 ^b	67,20±0,51 ^k
Bendras alkanų kiekis (%)		12,09±0,18 ⁱ	4,79±0,03 ^e	9,80±0,04 ^g	3,13±0,04 ^{bc}	9,09±0,18 ^f	4,26±0,03 ^{de}	11,16±0,11 ^h	3,65±0,10 ^{cd}	16,81±0,25 ^j	4,63±0,04 ^e	73,28±0,83 ^l	2,74±0,06 ^{ab}	83,85±1,10 ^m	2,43±0,03 ^a	69,54±0,28 ^k	2,05±0,03 ^a

*VF – vaškų frakcija, LF – laki frakcija; ^aKovats sulaiikymo indeksas apskaičiuotas pagal C₇-C₃₀ standartinių alkanų mišinį nepolinėje Elite-5 kolonėleje; ^bIdentifikuota pagal GC-TOF/MS spektrus ir Kovats sulaiikymo indeksą; ^{ab} – reikšmės eilutėse pažymėtos tomis pačiomis mažosiomis raidėmis pagal Fišerio LSD testą (P < 0,05) iš esmės nesiskiria

Pavyzdžiui, didesnė seskviterpeno E-kariofileno koncentracija identifikuota lakiojoje frakcijoje naudojant tirpiklį (5 % EtOH) 0, -10 ir -20 °C temperatūroje lyginant su tomis pačiomis ekstrakcijos atlikimo sąlygomis be tirpiklio (0 % EtOH), atitinkamai 1,67 ir 1,42 bei 1,19 karto. Statistiškai reikšmingai didžiausia E-kariofileno koncentracija nustatyta naudojant 5 % EtOH -10 °C temperatūroje (13,22 %). O vaškų frakcijose naudojant 5 % EtOH šio seskviterpeno visai nebuvo aptikta. Panaši tendencija pastebėta fitokanabinoidų grupėje. Pavyzdžiui, didesnės CBD ir Δ^9 -THC koncentracijos nustatytos lakiojoje frakcijoje naudojant 5 % EtOH -10, -20 ir -30 °C temperatūroje lyginant su vaškų frakcija. Statistiškai reikšmingai mažiausias CBD kiekis nustatytas vaškų frakcijoje, o didžiausias – lakiojoje frakcijoje naudojant 5 % EtOH -10 °C temperatūroje. Nepaisant to, statistiškai reikšmingai mažiausias Δ^9 -THC kiekis taip pat identifikuotas vaškų frakcijoje naudojant 5 % EtOH -10 °C temperatūroje. Be to, statistiškai reikšmingai didžiausia α -tokoferolio (vitamino E) koncentracija lakiojoje frakcijoje nustatyta frakcionuojant su 5 % EtOH -10 °C temperatūroje, o tai galėjo turėti įtakos dideliame ekstrakto antioksidaciniam aktyvumui. Galima daryti išvadą, kad efektyviausia SFE-CO₂ frakcionavimo su šaldymu ekstrakcija gauta naudojant 5 % EtOH -10 °C temperatūroje, kadangi bioaktyvūs terpenai ir kanabinoidai buvo sukonzentruoti lakiojoje frakcijoje, o mažiau naudinga vaškų frakcija nusodinta ir atskirta.

C. Da Porto ir kt. atliko pluoštinių kanapių žiedų SFE-CO₂ frakcionavimą naudojant du separatorius (S₁ ir S₂) ir nustatė, kad S₁ separatoriaus ekstrakto išeiga varijavo nuo 1,03 iki 1,39 %, o S₂ – nuo 0,34 iki 0,67 %. Atlikus frakcionavimą nustatyta, kad lakieji komponentai susikoncentravo antroje frakcijoje (S₂), o pirmoje frakcijoje (S₁) jų nebuvo aptikta. E-kariofileno koncentracija lakiojoje frakcijoje (S₂) sudarė nuo 30,80 iki 39,60 %, E- β -farneseno – nuo 1,15 iki 1,77 %, α -humuleno – nuo 7,15 iki 9,52 %, o kariofileno oksido – nuo 2,33 iki 6,11 % [199]. Literatūroje pateikti lakiųjų komponentų kiekiai buvo didesni lyginant su tyrimo rezultatais, tačiau tam esminės įtakos galėjo turėti skirtinga tiriamoji anatominė augalo dalis – žiedai. Mokslininkai L. J. Rovetto ir kt. ištyrė, kad vykdant SFE-CO₂ frakcionavimą be šaldymo su organiniu tirpikliu, Δ^9 -THC koncentracija S₂ frakcijos ekstrakto buvo nuo 1,53 iki 1,81 karto didesnė lyginant su S₁ priklausomai nuo tirtos kanapių veislės. O atlikto tyrimo rezultatai rodo, kad frakcionuojant su 5 % EtOH -10 °C temperatūroje, Δ^9 -THC kiekis buvo 3 kartus didesnis S₂ frakcijos ekstrakto lyginant su S₁. Šiam skirtumui reikšminės įtakos turėjo separatoriaus šaldymo temperatūros parinkimas, kadangi kaip ir minėta anksčiau aplinkos temperatūroje vaškai ir lakieji komponentai yra sunkiau atskiriami dėl jų panašaus tirpumo, o žemoje temperatūroje priešingai, jų atskyrimas yra geresnis [200].

Atlikus 'Finola' ekstraktų, išfrakcionuotų SFE-CO₂ su šaldymu, HPLC-UV/Vis analizę buvo nustatyta 10 pagrindinių fitokanabinoidų ir jų rūgščių: CBDV, CBG, CBD, THCV, THCA, DB, CBDA, CBGA, CBN ir CBC (žr. 21 ir 22 pav.). Gausiausiai aptinkamas fitokanabinoidas ekstraktuose buvo CBD ir jo pirmtakas – CBDA. Didžiausias CBD kiekis lakiosios frakcijos ekstraktuose nustatytas atliekant ekstrakciją be tirpiklio (0 % EtOH) (11,18–14,17 %), o CBDA – naudojant 5 % EtOH (12,07–17,66 %). O perskaičiavus kanabinoidų kiekį g/100 g sausos pradinės žaliavos, statistiškai reikšmingai didesnis CBD ir CBDA kiekis buvo nustatytas lakiosios frakcijos ekstraktuose su 5 % EtOH nei 0 % EtOH ir atitinkamai varijavo nuo 0,19 iki 0,29 bei nuo 0,34 iki 0,53 g/100 g priklausomai nuo šaldymo temperatūros. Statistiškai reikšmingai didžiausias CBD ir CBDA kiekis identifikuotas naudojant 5 % EtOH -10 °C temperatūroje.

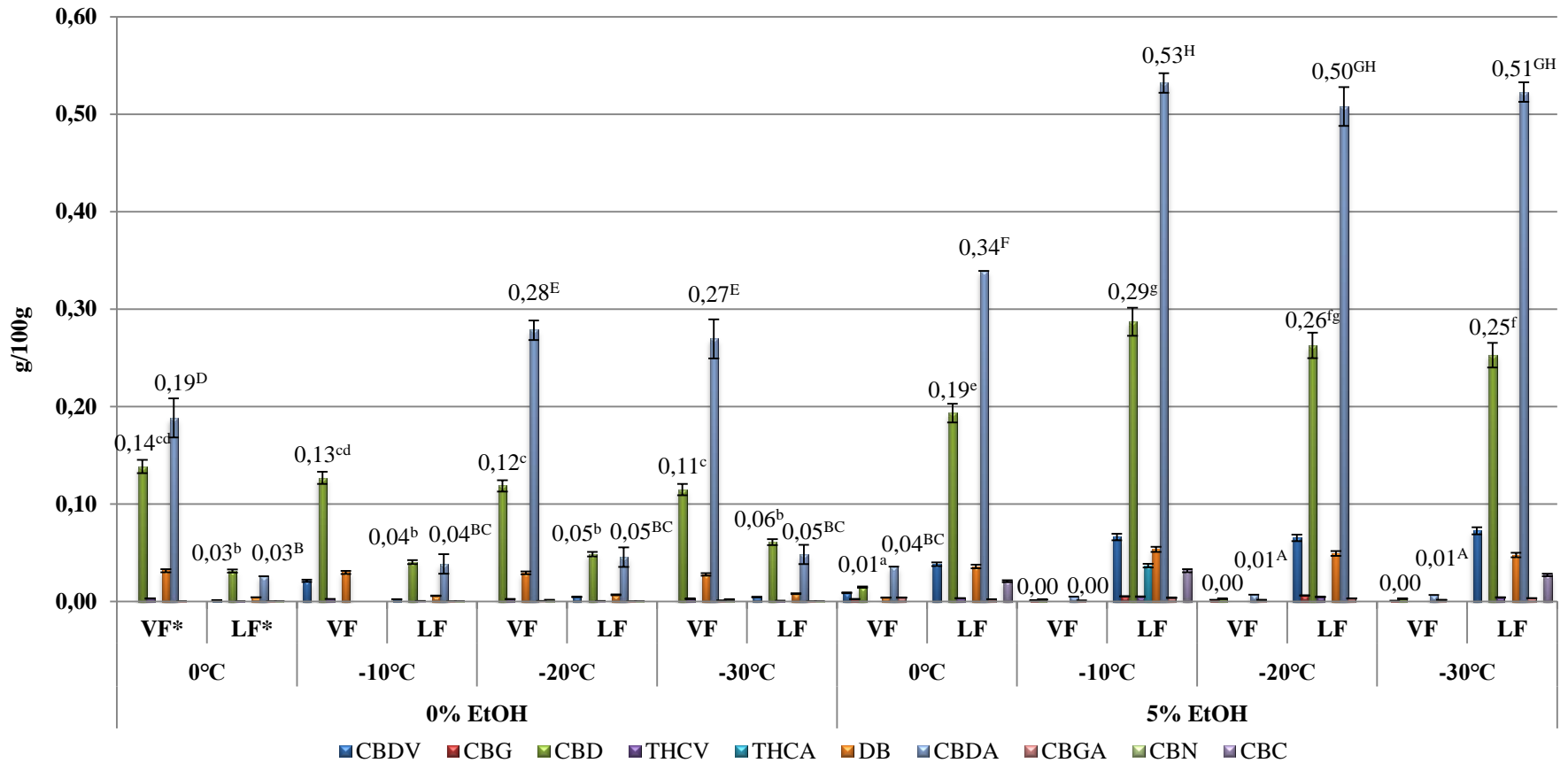


*VF – vaškų frakcija, LF – laki frakcija

21 pav. ‘Finola’ ekstraktų, išfrakcionuotų superkritiniu anglies dvideginiu (SFE-CO₂), fitokanabinoidų cheminė sudėtis, %

^{a,b} – reikšmės stulpeliuose tarp CBD pažymėtos tomis pačiomis mažosiomis raidėmis pagal Fišerio LSD testą (P < 0,05) iš esmės nesiskiria

^{A,B} – reikšmės stulpeliuose tarp CBDA pažymėtos tomis pačiomis didžiosiomis raidėmis pagal Fišerio LSD testą (P < 0,05) iš esmės nesiskiria



*VF – vaškų frakcija, LF – laki frakcija

22 pav. ‘Finola’ ekstraktų, išfrakcionuotų superkritiniu anglies dvideginiu (SFE-CO₂), fitokannabinoidų cheminė sudėtis, g/100 g S.M

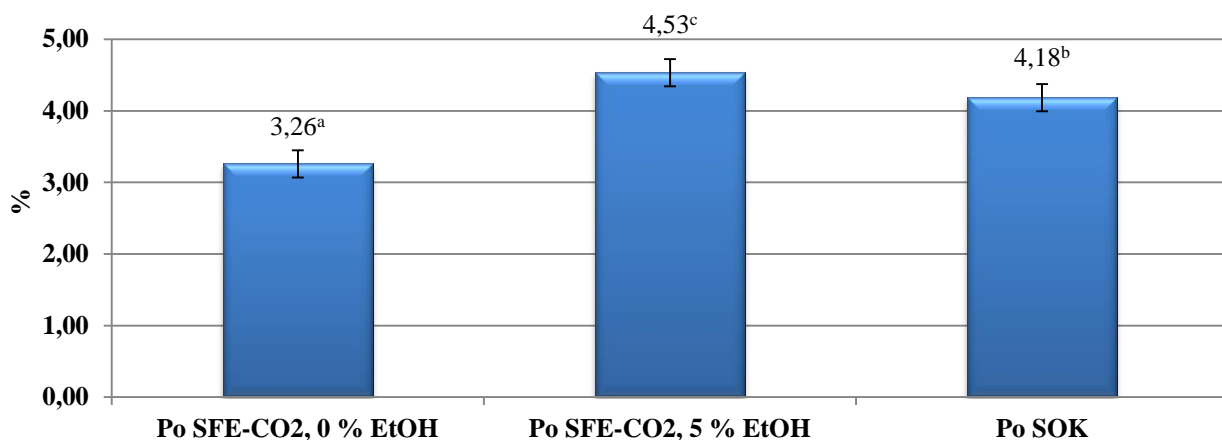
^{a,b} – reikšmės stulpeliuose tarp CBD pažymėtos tomis pačiomis mažosiomis raidėmis pagal Fišerio LSD testą (P < 0,05) iš esmės nesiskiria

^{A,B} – reikšmės stulpeliuose tarp CBDA pažymėtos tomis pačiomis didžiosiomis raidėmis pagal Fišerio LSD testą (P < 0,05) iš esmės nesiskiria

V. Kitrytė ir kt. nustatė pluoštinių kanapių veislės ‘Beniko’ pagrindinių kanabinoidų kiekį ekstrakte po SFE-CO₂ netaikant frakcionavimo. Optimaliomis sąlygomis (slėgis – 46,50 MPa, temperatūra – 70 °C, laikas – 120 min.) gauto ekstrakto CBD kiekis sudarė 24,72 % arba išreiškus pradinei sausai žaliavai – 0,21 g/100 g, o CBDA – 261,40 % arba 2,17 g/100 g [201]. Lyginant literatūroje pateikiamus duomenis su atlikto eksperimento rezultatais matyti ta pati tendencija, kadangi ekstrakte daugiausiai randama fitokanabinoido CBD ir jo rūgšties CBDA. Literatūroje nurodytas CBD kiekis ekstrakte buvo panašus lyginant su tyrimo rezultatais, o CBDA kiekis gautas ženkliai didesnis, tam įtakos galėjo turėti veislės genetinės savybės bei ekstrakcijos atlikimo sąlygos. Kaip jau minėta, fitokanabinoidai sintetinami augalinėje žaliavoje rūgščių pavidalu, dėl šios priežasties natūralu, kad dekarboksilinti junginiai yra aptinkami mažesniais kiekiais nei jų rūgštiniai pirmtakai [14].

3.7 Ekstraktų išėigų palyginimas naudojant tradicinę Soksleto (SOK) ir inovatyvią superkrizinę skysčių ekstrakciją anglies dvideginiu (SFE-CO₂)

Atlikus tradicinę SOK bei inovatyvią SFE-CO₂ ekstrakciją nustatyta, kad ekstrakto išėiga gauta po SOK ekstrakcijos (4,18 %) buvo statistiškai reikšmingai didesnė nei po SFE-CO₂/0 % EtOH (3,26 %). Tačiau 5 % EtOH turėjo statistiškai reikšminės įtakos SFE-CO₂ ekstrakto kiekiui, kadangi jo išėiga buvo 1,39 ir 1,08 karto didesnė lyginant su SFE-CO₂/0 % EtOH bei SOK ekstraktų išėigomis.



23 pav. ‘Finola’ ekstraktų išėigos išskirtos inovatyvia superkrizinių skysčių ekstrakcija anglies dvideginiu (SFE-CO₂) ir tradicine Soksleto (SOK) ekstrakcija, %

^{a,b} – reikšmės stulpeliuose pažymėtos tomis pačiomis mažosiomis raidėmis pagal Fišerio LSD testą (P < 0,05) iš esmės nesiskiria

Organinis tirpiklis etanolis (EtOH) superkriziniame CO₂ skystyje naudojamas siekiant padidinti polinių junginių tirpumui. Šis tirpiklis yra pripažintas saugiu (GRAS) [6]. Mokslininkai teigia, kad EtOH naudojimas padidina ekstraktų išėigą bei sukonzentruoja juose esančių kanabinoidų ir terpenų kiekį [202]. Literatūroje tai pat nurodoma, kad inovatyvi SFE-CO₂ ekstrakcija turi pranašumų lyginant su tradicine SOK: žema temperatūra leidžia išsaugoti termolabilius junginius, trumpesnė ir ekonomiškai naudingesnė ekstrakcija bei didelis selektyvumas siekiant išekstrahuoti norimus junginius. Dėl šios priežasties, inovatyvi SFE-CO₂ ekstrakcija gali būti naudojama kaip alternatyva tradicinei SOK ekstrakcijai [163].

3.8 Pradinės žaliavos, ekstraktų ir ekstrakcijos liekanų antioksidacinis potencialas po tradicinės Soksleto (SOK) ir inovatyvios superkrizinės skysčių ekstrakcijos anglies dvideginiu (SFE-CO₂)

Pradinės žaliavos ir ekstrakcijos liekanų bendras fenolinių junginių kiekis (TPC) įvertintas *Folin–Ciocalteu* metodu, antioksidacinis aktyvumas įvertintas ABTS⁺ laisvųjų radikalų sujungimo metodu, o deguonies radikalų absorbcijos pajėgumas nustatytas ORAC metodu. Ekstraktų po tradicinės SOK ir inovatyvios SFE-CO₂ ekstrakcijos antioksidacinis potencialas įvertintas ORAC metodu. Statistiškai reikšmingai mažiausias antioksidacinis aktyvumas visose modelinėse sistemose nustatytas prieš ekstrakciją esančioje pradinėje žaliavoje (žr. 16 lent.). Statistiškai reikšmingai didžiausia TPC koncentracija ištirta liekanoje po SOK, atitinkamai 26,49 mg GAE/g S.M, o ABTS⁺ ir ORAC modelinėse sistemose – liekanoje po SFE-CO₂/0% EtOH, atitinkamai 138,28 ir 154,91 mg TE/g S.M. Tokį pokytį galėjo lemti lipofiliškos frakcijos išgavimas, t. y. liekanose padidėjęs hidrofiliškos frakcijos kiekis. Po SFE-CO₂ gautose liekanose be tirpiklio (0 % EtOH) nustatytas statistiškai reikšmingai didesnis antioksidacinis aktyvumas nei su tirpikliu (5 % EtOH). Dėl šios priežasties galima teigti, kad 5 % EtOH lėmė geresnį polinių antioksidaciniu aktyvumu pasižyminčių junginių išekstrahavimą iš žaliavos bei didesni jų kiekį ekstraktuose.

16 lentelė. ‘Finola’ antioksidacinis aktyvumas prieš ir po tradicinės Soksleto (SOK) bei inovatyvios superkrizinės skysčių ekstrakcijos anglies dvideginiu (SFE-CO₂), mg/g S.M

Ekstrakcijos metodas	TPC, mg GAE/g S.M	ABTS ⁺ , mg TE/g S.M	ORAC, mg TE/g S.M
Prieš ekstrakciją	18,01 ± 0,35 ^a	111,31 ± 0,86 ^a	123,51 ± 4,68 ^a
Po SOK	26,49 ± 0,50 ^d	130,18 ± 0,66 ^c	133,13 ± 7,59 ^a
Po SFE-CO ₂ , 0% EtOH	23,04 ± 0,17 ^c	138,28 ± 4,11 ^d	154,91 ± 2,01 ^b
Po SFE-CO ₂ , 5% EtOH	20,34 ± 0,21 ^b	120,94 ± 0,70 ^b	132,05 ± 9,86 ^a

^{a,b} – reikšmės stulpeliuose pažymėtos tomis pačiomis mažosiomis raidėmis pagal Fišerio LSD testą (P < 0,05) iš esmės nesiskiria

Atlikus ORAC ekstraktų analizę po tradicinės SOK ir inovatyvios SFE-CO₂ be frakcionavimo ir šaldymo nustatyta, kad statistiškai reikšmingai didžiausia antioksidacine galia pasižymėjo ekstraktas išskirtas SFE-CO₂ be organinio tirpiklio (0 % EtOH) ir atitinkamai sudarė 1249,07 mg TE/g ekstrakto. Tačiau perskaičiavus ORAC vertes sausiai pradinei žaliavai, statistiškai reikšmingai didžiausiu antioksidaciniu aktyvumu pasižymėjo ekstraktas išskirtas SFE-CO₂ naudojant 5 % EtOH ir atitinkamai sudarė 48,04 mg TE/g S.M (žr. 17 lent.). Įvykdžius SFE-CO₂ ekstraktų frakcionavimą su šaldymu (-30–0 °C) pastebėta, kad nepriklausomai nuo to ar organinis tirpiklis buvo naudojamas, lakiojoje frakcijoje buvo nustatytos didesnės ORAC vertės nei vaškų frakcijoje. Pavyzdžiui, ekstraktų, išskirtų SFE-CO₂ be tirpiklio (0 % EtOH), lakios frakcijos antioksidacinis potencialas sudarė nuo 761,04 iki 987,73 mg TE/g ekstrakto, o vaškų frakcijos – nuo 459,31 iki 809,41 mg TE/g ekstrakto priklausomai nuo šaldymo temperatūros. Ekstraktų, išskirtų SFE-CO₂ naudojant organinį tirpiklį (5 % EtOH), lakios frakcijos antioksidacinis potencialas sudarė nuo 636,71 iki 887,26 mg TE/g ekstrakto, o vaškų frakcijos – nuo 72,88 iki 237,62 mg TE/g ekstrakto priklausomai nuo šaldymo temperatūros. Rezultatai rodo, kad vykdamas SFE-CO₂ frakcionavimą be organinio tirpiklio (0 % EtOH), vaškų frakcijoje lieka didelis kiekis antioksidaciniu aktyvumu pasižyminčių junginių.

Pavyzdžiui, naudojant organinį tirpiklį (5 % EtOH) vaškų frakcijoje buvo nustatytos nuo 12,17 iki 2,68 karto mažesnės ORAC vertės nei lakiojoje frakcijoje, o nenaudojant organinio tirpiklio (0 % EtOH) šis skirtumas sudarė tik nuo 1,66 iki 1,21 karto priklausomai nuo šaldymo temperatūros.

17 lentelė. ‘Finola’ ekstraktų deguonies radikalų absorbcijos pajėgumo nustatymas (ORAC) po tradicinės Soksleto (SOK) bei inovatyvios superkrizinės skysčių ekstrakcijos anglies dvideginiu (SFE-CO₂), mg TE/g ekstrakto ir mg TE/g S.M

Ekstrakcijos metodas	Frakcija	EtOH, %	Temperatūra, °C	ORAC, mg TE/g ekstrakto	ORAC, mg TE/g S.M
SOK	–	–	–	914,76 ± 32,14 ^a	38,24 ± 1,34 ^a
SFE-CO ₂ be šaldymo	–	0	–	1249,07 ± 24,23 ^c	40,72 ± 0,79 ^a
	–	5	–	1060,50 ± 80,21 ^b	48,04 ± 3,63 ^b
SFE-CO ₂ su šaldymu	Lakūs	0	0	_D 761,04 ± 3,05 ^g	_A 2,13 ± 0,01 ^c
			-10	_G 987,73 ± 5,16 ^l	_B 3,06 ± 0,02 ^d
			-20	_{FG} 978,93 ± 26,33 ^l	_B 3,52 ± 0,09 ^e
			-30	_F 961,59 ± 10,81 ^k	_C 4,13 ± 0,05 ^f
	Lakūs	5	0	₄ 636,71 ± 4,21 ^l	₄ 17,89 ± 0,12 ^l
			-10	₅ 873,02 ± 7,62 ⁱ	₇ 27,50 ± 0,24 ⁿ
			-20	₅ 878,67 ± 3,91 ^{ij}	₆ 27,06 ± 0,12 ^m
			-30	₆ 887,26 ± 8,53 ^j	₅ 26,26 ± 0,25 ^l
	Vaškai	0	0	_A 459,31 ± 13,72 ^d	_D 13,69 ± 0,41 ^g
			-10	_C 633,20 ± 10,87 ^f	_F 18,68 ± 0,32 ^j
			-20	_E 809,41 ± 4,20 ^h	_G 23,47 ± 0,12 ^k
			-30	_B 592,30 ± 17,95 ^e	_E 16,76 ± 0,51 ^h
Vaškai	5	0	₃ 237,62 ± 5,24 ^c	₃ 4,09 ± 0,09 ^f	
		-10	₁ 77,27 ± 3,76 ^a	₁ 1,07 ± 0,05 ^a	
		-20	₂ 94,38 ± 1,79 ^b	₂ 1,37 ± 0,03 ^b	
		-30	₁ 72,88 ± 3,43 ^a	₁ 1,14 ± 0,05 ^{ab}	

^{a,b} – reikšmės stulpeliuose pažymėtos tomis pačiomis mažosiomis raidėmis pagal Fišerio LSD testą (P < 0,05) iš esmės nesiskiria

^{A,B} – reikšmės stulpeliuose tarp 0% EtOH lakios ir vaškų frakcijų pažymėtos pažymėtos tomis pačiomis didžiosiomis raidėmis pagal Fišerio LSD testą (P < 0,05) iš esmės nesiskiria

^{1,2} – reikšmės stulpeliuose tarp 5% EtOH lakios ir vaškų frakcijų pažymėtos pažymėtos tuo pačiu skaičiumi pagal Fišerio LSD testą (P < 0,05) iš esmės nesiskiria

Perskaičius ORAC ekstrakto vertes sausai pradinei žaliavai, duomenis galima interpretuoti plačiau, kadangi iš mažesniu antioksidaciniu aktyvumu pasižyminčių, tačiau didesnės išeigos ekstraktų galima išskirti didesnę dalį augalo antioksidantų. Statistiškai reikšmingai didžiausia ORAC verte pasižymėjo lakios frakcijos ekstraktas (27,50 TE/g S.M), o mažiausia – vaškų frakcijos ekstraktas (1,07 mg TE/ g S.M) po SFE-CO₂ naudojant 5 % EtOH -10 °C temperatūroje. Taigi galima daryti išvadą, kad efektyviausia antioksidaciniu aktyvumu pasižyminčių junginių SFE-CO₂ ekstrakcija gauta naudojant 5 % EtOH -10 °C temperatūroje, kadangi ekstrakciją atliekant šiomis sąlygomis lakiojoje frakcijoje buvo nustatytas didžiausias, o vaškų frakcijoje – mažiausias deguonies radikalų absorbcijos pajėgumas.

V. Kitrytė ir kt. ištyrė pluoštinių kanapių veislės ‘Beniko’ pradinės žaliavos, ekstrakto bei liekanos po SFE-CO₂ (slėgis – 46,50 MPa, temperatūra – 70 °C, laikas – 120 min.) netaikant frakcionavimo antioksidacinį potencialą. Tyrimo duomenys parodė, kad pradinės žaliavos TPC kiekis sudarė 35,49 mg GAE/g S.M, o ORAC ir ABTS⁺⁺ antioksidacinė galia – 174,80 bei 189,60 mg TE/g S.M. Antioksidacinis liekanos po SFE-CO₂ aktyvumas TPC ir ORAC modelinėse sistemose nustatytas

mažesnis lyginant su pradine žaliava, išskyrus ABTS⁺ sistemoje, jų kiekis atitinkamai sudarė 28,91 mg GAE/g S.M ir 146,30 bei 199,90 mg TE/g S.M. SFE-CO₂ ekstrakto ORAC vertė sudarė 469,50 mg TE/g ekstrakto arba perskaičiavus sausai pradinei žaliavai – 35,68 mg TE/g S.M [201]. Lyginant literatūroje pateikiamus duomenis su gautais tyrimo rezultatais pastebėta panaši tendencija, tačiau ORAC vertė pradinėje žaliavoje ir liekanoje po SFE-CO₂ buvo nustatyta mažesnė, o ekstrakto priešingai – didesnė. Tam įtakos galėjo turėti ne tik skirtingų veislių genetinės savybės, tačiau taip pat skirtingos SFE-CO₂ ekstrakcijos atlikimo sąlygos. M. Palma ir kt. nustatė, kad organinis tirpiklis metanolis padidino superkritinio skysčio poliškumą bei ekstrakto frakcionavimo galimybes. Šie mokslininkai ištyrė dvi frakcijas: pirmojoje daugiausiai buvo nustatyta riebalų rūgščių, alifatinių aldehydų bei sterolių, o antrojoje – fenolinių junginių (katechinų, epikatechinų, galo rūgšties) [203]. Remiantis literatūros duomenis bei atlikto eksperimento rezultatais, galima daryti išvadą, kad atliekant SFE-CO₂ frakcionavimą su organiniu tirpikliu (5 % EtOH) ir atitinkamai parinkus optimalią separatoriaus šaldymo temperatūrą (-10 °C), antioksidaciniu aktyvumu pasižyminčius junginius galima sukcentruoti lakiojoje frakcijoje, o vaškų frakcijoje jų kiekis lieka minimalus.

Išvados

1. Didžiausias eterinio aliejaus (EO) kiekis po hidrodistiliacijos (HD) ištirtas 'Sidrabi' veislės pluoštinių kanapių lapuose, atitinkamai 0,15 ml/100 g, o įvertinus skirtingo vegetacijos periodo įtaką – šviežiuose ir džiovintuose lapuose po žydėjimo (Estija), atitinkamai 0,13 ir 0,24 ml/100 g. Dominuojantys EO komponentai po HD identifikuoti GC-FID ir GC-TOF/MS metodais buvo α -pinenas, mircenas, E-kariofilenas, α -humulenai, kariofileno oksidas ir kanabidiolis (CBD).
2. Efektyviausia antioksidaciniu aktyvumu pasižyminčių junginių ekstrakcija po HD nustatyta 'CFX-1' ir 'CFX-2' veislių pluoštinių kanapių lapuose, o įvertinus skirtingo vegetacijos periodo įtaką – džiovintuose lapuose prieš žydėjimą, kadangi kietoje liekanoje rastos mažiausios TPC, ABTS⁺⁺ ir ORAC vertės lyginant su pradine žaliava. HD metu gauto vandeninio ekstrakto antioksidacinis aktyvumas apskaičiuotas sausai žaliavai buvo beveik lygus nustatytam pradinėje žaliavoje, o tai parodo labai didelį ekstrakcijos efektyvumą. Šie ekstraktai galėtų būti pritaikyti gaminant funkcionalų maistą ar maisto papildus.
3. Didžiausias fitokanabinoidų Δ^9 -THC ir Δ^9 -THCA kiekis identifikuotas HPLC-UV/Vis metodu pradinėje žaliavoje buvo nustatytas 'Grandi' (0,23 ir 0,22 %), o CBD ir CBDA – 'Sidrabi' veislių pluoštinių kanapių lapuose (0,94 ir 0,97 %).
4. Įvykdžius pluoštinių kanapių lapų frakcionavimą be organinio tirpiklio (0 % EtOH) ir su 5 % etanolio (5 % EtOH) naudojant superkritinę skysčių ekstrakciją anglies dvideginiu (SFE-CO₂) su šaldymu (-30–0 °C) nustatyta, kad efektyviausia ekstrakcija gauta naudojant 5 % EtOH -10 °C temperatūroje, kadangi pritaikius šias sąlygas gauta didžiausia lakios (3,15 %) ir mažiausia vaškų frakcijos išeiga (1,38 %).
5. Didžiausias fitokanabinoidų CBD ir CBDA kiekis identifikuotas HPLC-UV/Vis metodu buvo nustatytas lakios frakcijos ekstrakto po SFE-CO₂ frakcionavimo naudojant 5 % EtOH -10 °C temperatūroje, atitinkamai 0,29 ir 0,53 g/100 g S.M. Dominuojantys ekstrakto komponentai po SFE-CO₂ nustatyti GC-FID ir GC-TOF/MS metodais buvo E-kariofilenas, fitolis, CBD, Δ^9 -THC, heptakozanas, nonakozanas ir untriakontanas.
6. Palyginus gautas ekstraktų išeigas naudojant tradicinę Soksleto (SOK) ir inovatyvią SFE-CO₂ ekstrakcijas nustatyta, kad 5 % EtOH turėjo reikšminę įtaką SFE-CO₂ ekstrakto kiekiui, kadangi jo išeiga buvo 1,39 ir 1,08 karto didesnė lyginant su SFE-CO₂/0 % EtOH bei SOK ekstraktų išeigomis.
7. SFE-CO₂/5 % EtOH lėmė didesnę antioksidacinių aktyvumu pasižyminčių junginių, nustatytų įvairiais *in vitro* metodais (TPC, ABTS⁺⁺, ORAC), išekstrahavimą iš žaliavos bei didesnę jų kiekį ekstraktuose lyginant su SFE-CO₂/0 % EtOH bei SOK ekstrakcijų metodais. Efektyviausia ekstrakcija gauta naudojant SFE-CO₂/5 % EtOH -10 °C temperatūroje, kadangi lakiojoje frakcijoje buvo nustatytas didžiausias (27,50 mg TE/g S.M), o vaškų frakcijoje – mažiausias (1,07 mg TE/g S.M) deguonies radikalų absorbcijos pajėgumas (ORAC).

Padėka

Nuoširdžiai dėkoju magistro baigiamojo darbo vadovui prof. dr. Petriui Rimantui Venskutoniui už temos aktualumą ir naujumą, pagalbą, idėjas, mokslines konsultacijas, benbradarbiavimą atliekant ir rašant baigiamąjį darbą. Nuoširdžiai dėkoju KTU maisto mokslo ir technologijų katedros darbuotojoms: j. m. d. Renatai Baranauskienei, j. m. d. Ramutei Maždžierienei ir dokt. Laurai Tamkutei už visokeriopą pagalbą atliekant mokslinius tyrimus. Taip pat noriu padėkoti ekologiškų pluoštinių kanapių augintojų įmonei „Agropro“ suteikusiai žaliavą tyrimams.

Literatūros sarakšas

- [1] JIANG, Hong-En, Xiao LI, You-Xing ZHAO, David K. FERGUSON, Francis HUEBER, Subir BERA, Yu-Fei WANG, Liang-Cheng ZHAO, Chang-Jiang LIU ir Cheng-Sen LI. A new insight into Cannabis sativa (Cannabaceae) utilization from 2500-year-old Yanghai Tombs, Xinjiang, China. *Journal of Ethnopharmacology* [interaktyvus]. 2006, **108**(3), 414–422 [žiūrėta 2019-03-06]. ISSN 03788741. Prieiga per: doi:10.1016/j.jep.2006.05.034
- [2] ELSOHLY, Mahmoud A. ir Desmond SLADE. Chemical constituents of marijuana: The complex mixture of natural cannabinoids. *Life Sciences* [interaktyvus]. 2005, **78**(5), 539–548. ISSN 00243205. Prieiga per: doi:10.1016/j.lfs.2005.09.011
- [3] BURSTEIN, Sumner. Cannabidiol (CBD) and its analogs: a review of their effects on inflammation. *Bioorganic & Medicinal Chemistry* [interaktyvus]. 2015, **23**(7), 1377–1385 [žiūrėta 2019-03-06]. ISSN 09680896. Prieiga per: doi:10.1016/j.bmc.2015.01.059
- [4] WANAS, Amira S., Mohammed M. RADWAN, Zlatko MEHMEDIC, Melissa JACOB, Iklas A. KHAN ir Mahmoud A. ELSOHLY. Antifungal activity of the volatiles of high potency Cannabis sativa L. Against Cryptococcus neoformans. *Records of Natural Products*. 2015, **10**(2), 214–220. ISSN 13076167.
- [5] BURT, Sara. Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods—a review. *International Journal of Food Microbiology* [interaktyvus]. 2004, **94**(3), 223–253 [žiūrėta 2019-03-06]. ISSN 0168-1605. Prieiga per: doi:10.1016/J.IJFOODMICRO.2004.03.022
- [6] REVERCHON, Ernesto ir Iolanda DE MARCO. Supercritical fluid extraction and fractionation of natural matter. *The Journal of Supercritical Fluids* [interaktyvus]. 2006, **38**(2), 146–166 [žiūrėta 2019-04-02]. ISSN 0896-8446. Prieiga per: doi:10.1016/J.SUPFLU.2006.03.020
- [7] POTTER, David. J. The propagation, characterisation and optimisation of Cannabis sativa L. as a phytopharmaceutical. *London Kings College*. 2009, 1–255.
- [8] GERTSCH, Jürg, Roger G. PERTWEE ir Vincenzo DI MARZO. Phytocannabinoids beyond the Cannabis plant - Do they exist? *British Journal of Pharmacology* [interaktyvus]. 2010, **160**(3), 523–529. ISSN 14765381. Prieiga per: doi:10.1111/j.1476-5381.2010.00745.x
- [9] HALLIWELL, Barry, Joseph RAFTER ir Andrew JENNER. Health promotion by flavonoids, tocopherols, tocotrienols, and other phenols: direct or indirect effects? Antioxidant or not? *The American Journal of Clinical Nutrition* [interaktyvus]. 2005, **81**(1), 268S–276S [žiūrėta 2019-03-26]. ISSN 0002-9165. Prieiga per: doi:10.1093/ajcn/81.1.268S
- [10] FLORES-SANCHEZ, Isvett Josefina ir Robert VERPOORTE. Secondary metabolism in cannabis. *Phytochemistry Reviews* [interaktyvus]. 2008, **7**(3), 615–639. ISSN 15687767. Prieiga per: doi:10.1007/s11101-008-9094-4
- [11] LINNAEUS, C. *Species plantarum. T. I-II*. 1753.
- [12] MCPARTLAND, J. M., R. C. CLARKE, ir D. P. Watson. *Hemp Diseases and Pests: Management and Biological Control* [interaktyvus]. New York: CABI, 2000. ISBN 9788578110796. Prieiga per: doi:10.1111/j.1751-0813.1982.tb02731.x
- [13] HILLIG, Karl W. Genetic evidence for speciation in Cannabis (Cannabaceae). *Genetic Resources and Crop Evolution* [interaktyvus]. 2005, **52**(2), 161–180. ISSN 09259864. Prieiga per: doi:10.1007/s10722-003-4452-y
- [14] HARTSEL, Joshua A., Joshua EADES, Brian HICKORY ir Alexandros MAKRIYANNIS. Cannabis sativa and Hemp. RAMESH GUPTA, sud. *Nutraceuticals: Efficacy, Safety and Toxicity* [interaktyvus]. 1-asis leid. B.m.: Elsevier, 2016 [žiūrėta 2019-03-17], p. 735–754.

- ISBN 9780128021477. Prieiga per: doi:10.1016/B978-0-12-802147-7.00053-X
- [15] UPTON, R., CRAKER, L., ELSOHLY, M. ir kt. *Cannabis Inflorescence: Standards of Identity, Analysis, and Quality Control*. Scott's Valley, CA. B.m.: American Herbal Pharmacopoeia, 2013. ISBN 1-929425-33-3.
- [16] THOMAS, Brian F. ir Mahmoud A. ELSOHLY. *The Analytical Chemistry of Cannabis: Quality Assessment, Assurance, and Regulation of Medicinal Marijuana and Cannabinoid Preparations* [interaktyvus]. 1-asis leid. United States: Elsevier, 2016 [žiūrėta 2019-03-06]. ISBN 9780128046708. Prieiga per: doi:http://dx.doi.org/10.1016/B978-0-12-804646-3.00001-1
- [17] MOLITERNI, V. M. Cristiana, Luigi CATTIVELLI, P. RANALLI ir Giuseppe MANDOLINO. The sexual differentiation of *Cannabis sativa* L.: A morphological and molecular study. *Euphytica* [interaktyvus]. 2004, **140**(1), 95–106. ISSN 00142336. Prieiga per: doi:10.1007/s10681-004-4758-7
- [18] MEDIAVILLA, Vito, Manuel JONQUERA, Ingrid SCHMID-SLEMBROUCK ir Alberto SOLDATI. Decimal code for growth stages of hemp (*Cannabis sativa* L.). *Source: Journal of the International Hemp Association*. 1998, **5**(65), 68–74.
- [19] ROYAL QUEEN SEEDS. *What's The Difference Between Hemp Seed Oil And CBD Oil?* [interaktyvus]. 2018. Prieiga per: <https://www.royalqueenseeds.com/blog-whats-the-difference-between-hemp-seed-oil-and-cbd-oil-n918>
- [20] JONAITIENĖ, V., Z. JANKAUSKIENĖ ir I. STUOGĖ. Hemp Cultivation Opportunities and Perspectives in Lithuania. *Natural Fibres: Advances in Science and Technology Towards Industrial Applications* [interaktyvus]. B.m.: Springer, Dordrecht, 2016 [žiūrėta 2019-03-07], p. 407–414. Prieiga per: doi:10.1007/978-94-017-7515-1_32
- [21] SALENTIIN, Elma M.J., Qingying ZHANG, Stefano AMADUCCI, Ming YANG ir Luisa M. TRINDADE. New developments in fiber hemp (*Cannabis sativa* L.) breeding. *Industrial Crops and Products* [interaktyvus]. 2015, **68**, 32–41 [žiūrėta 2019-03-06]. ISSN 0926-6690. Prieiga per: doi:10.1016/J.INDCROP.2014.08.011
- [22] VALSTYBINĖ AUGALININKYSTĖS TARNYBA PRIE ŽEMĖS ŪKIO MINISTERIJOS. *Informacija apie 2018 metais pluoštinių kanapių pasėlių plotus pagal veisles* [interaktyvus]. 2018. Prieiga per: http://www.vatzum.lt/uploads/documents/dauginamoji_medziaga/kiemiai/info_2018_kanapi_veisls_mg.pdf
- [23] RANALLI, Paolo ir Gianpietro VENTURI. Hemp as a raw material for industrial applications. *Euphytica* [interaktyvus]. 2004, **140**(1–2), 1–6 [žiūrėta 2019-03-07]. ISSN 0014-2336. Prieiga per: doi:10.1007/s10681-004-4749-8
- [24] BERENJI, J., SIKORA, V., FOURNIER, G., BEHEREC, O. Genetics and selection of hemp. *Hemp: Industrial Production and Uses* [interaktyvus]. Wallingford, UK: CABI, 2013, p. 48–71. Prieiga per: doi:10.1079/9781845937935.0048
- [25] BREDEMANN, G. Die Bestimmung des Fasergehaltes bei Massenuntersuchungen von Hanf, Flachs, Fasernesseln und anderen Bastfaserpflanzen. In German. *Faserforschung*. 1942, **16**, 14–39.
- [26] DE MEIJER, E. P. M. Fibre hemp cultivars: A survey of origin, ancestry, availability and brief agronomic characteristics. *Journal of the International Hemp Association*. 1995, **2**(2), 66–73.
- [27] RANALLI, Paolo. Current status and future scenarios of hemp breeding. *Euphytica* [interaktyvus]. 2004, **140**(1–2), 121–131 [žiūrėta 2019-03-06]. ISSN 0014-2336. Prieiga per: doi:10.1007/s10681-004-4760-0
- [28] JANKAUSKIENĖ, Zofija ir Elvyra GRUZDEVIENĖ. Beniko and Bialobrezskie–industrial

- hemp varieties in Lithuania. *Proceedings of the 7th International Scientific and Practical Conference*. 2009. ISBN 9789984440279.
- [29] EUROPEAN COMISION. Plant Variety Database: *Agricultural Plant Species* [interaktyvus]. 2015. Prieiga per: http://ec.europa.eu/food/plant/plant_propagation_material/plant_variety_catalogues_databases/search/public/index.cfm?event=SearchVariety&ctl_type=A&species_id=240&variety_name=&listed_in=0&show_current=on&show_deleted
- [30] LAATE, E. Industrial Hemp Production in Canada. *Government of Alberta: Agriculture and Rural Development*. 2012, 1–7.
- [31] HANKS, Arthur. Canadian hemp update 2007. *Journal of Industrial Hemp* [interaktyvus]. 2008, **13**, 49–57. ISSN 15377881. Prieiga per: doi:10.1080/15377880801898725
- [32] WATSON, K., KOSTUIK, J., MCEACHERN, S., MELNYCHENKO, A. Industrial hemp fiber variety trial. *Parkland Crop Diversification Annual Report*. 2012, 107–124.
- [33] GOVERNMENT OF CANADA. Cannabis in Cannada. *List of Approved Cultivars for the 2018 Growing Season: Industrial Hemp Varieties Approved for Commercial Production* [interaktyvus]. 2018. Prieiga per : <https://www.canada.ca/en/health-canada/services/drugs-medication/cannabis/producing-selling-hemp/commercial-licence/list-approved-cultivars-cannabis-sativa.html>
- [34] BRENNEISEN, Rudolf. Chemistry and Analysis of Phytocannabinoids and Other Cannabis Constituents. *Marijuana and the Cannabinoids* [interaktyvus]. Totowa, NJ: Humana Press, 2007 [žiūrėta 2019-03-07], p. 17–49. Prieiga per: doi:10.1007/978-1-59259-947-9_2
- [35] RADWAN, Mohamed M, Mahmoud A ELSOHLY, Desmond SLADE, Safwat A AHMED, Lisa WILSON, Abir T EL-ALFY, Ikhlas A KHAN ir Samir A ROSS. Non-cannabinoid constituents from a high potency Cannabis sativa variety. *Phytochemistry* [interaktyvus]. 2008, **69**(14), 2627–33 [žiūrėta 2019-03-07]. ISSN 0031-9422. Prieiga per: doi:10.1016/j.phytochem.2008.07.010
- [36] GAGNE, S. J., J. M. STOUT, E. LIU, Z. BOUBAKIR, S. M. CLARK ir J. E. PAGE. Identification of olivetolic acid cyclase from Cannabis sativa reveals a unique catalytic route to plant polyketides. *Proceedings of the National Academy of Sciences* [interaktyvus]. 2012, **109**(31), 12811–12816 [žiūrėta 2019-03-08]. ISSN 0027-8424. Prieiga per: doi:10.1073/pnas.1200330109
- [37] MARKS, M David, Li TIAN, Jonathan P WENGER, Stephanie N OMBURO, Wilfredo SOTO-FUENTES, Ji HE, David R GANG, George D WEIBLEN ir Richard A DIXON. Identification of candidate genes affecting Delta9-tetrahydrocannabinol biosynthesis in Cannabis sativa. *Journal of experimental botany* [interaktyvus]. 2009, **60**(13), 3715–26 [žiūrėta 2019-03-08]. ISSN 1460-2431. Prieiga per: doi:10.1093/jxb/erp210
- [38] BASER K.H.C, Buchbauer G. *Handbook of Essential Oils: Science, Technology, and Applications*. 1 edition. B.m.: CRC Press, 2009. ISBN 9781420063158.
- [39] CARSON, C. F., K. A. HAMMER ir T. V. RILEY. Melaleuca alternifolia (Tea Tree) Oil: a Review of Antimicrobial and Other Medicinal Properties. *Clinical Microbiology Reviews* [interaktyvus]. 2006, **19**(1), 50–62 [žiūrėta 2019-03-07]. ISSN 0893-8512. Prieiga per: doi:10.1128/CMR.19.1.50-62.2006
- [40] MASOTTI, Véronique, Fabien JUTEAU, Jean Marie BESSIÈRE ir Josette VIANO. Seasonal and Phenological Variations of the Essential Oil from the Narrow Endemic Species *Artemisia molinieri* and Its Biological Activities. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* [interaktyvus]. 2003, **51**(24), 7115–7121 [žiūrėta 2019-03-07]. ISSN 0021-8561. Prieiga per: doi:10.1021/jf034621y
- [41] BERGER R.G. *Flavours and Fragrances: Chemistry, Bioprocessing and Sustainability*

- [interaktyvus]. B.m.: Springer, 2007. ISBN 9783540493389. Prieiga per: doi:10.1007/b136889
- [42] SCHOOL SCIENCE LESSONS. *Terpenes* [interaktyvus]. 2019. Prieiga per: https://www.uq.edu.au/_School_Science_Lessons/topic16f.html
- [43] BRAHMKSHATRIYA, Priyanka P. ir Pathik S. BRAHMKSHATRIYA. Terpenes: Chemistry, Biological Role, and Therapeutic Applications. *Natural Products* [interaktyvus]. Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg, 2013 [žiūrėta 2019-03-12], p. 2665–2691. Prieiga per: doi:10.1007/978-3-642-22144-6_120
- [44] DE SOUSA, Damião Pergentino. Bioactive Essential Oils and Cancer. *Bioactive Essential Oils and Cancer* [interaktyvus]. B.m.: Springer, 2015, p. 1–292. ISBN 9783319191447. Prieiga per: doi:10.1007/978-3-319-19144-7
- [45] CROTEAU R., KUTCHAN T.M, Lewis N.G. Natural products (secondary metabolites). Jones R. (Eds.) BUCHANAN B., GRUISSEM W., sud. *Biochemistry and Molecular Biology of Plants, American Society of Plant Physiologists*. B.m.: Rock Ville, 2000, p. 1250–1319.
- [46] ROSS, Samir A. ir Mahmoud A. ELSOHLI. The Volatile Oil Composition of Fresh and Air-Dried Buds of *Cannabis sativa*. *Journal of Natural Products* [interaktyvus]. 1996, **59**(1), 49–51 [žiūrėta 2019-03-13]. ISSN 0163-3864. Prieiga per: doi:10.1021/np960004a
- [47] MEHMEDIC, Zlatko, Suman CHANDRA, Desmond SLADE, Heather DENHAM, Susan FOSTER, Amit S. PATEL, Samir A. ROSS, Ikhlas A. KHAN ir Mahmoud A. ELSOHLI. Potency Trends of Δ^9 -THC and Other Cannabinoids in Confiscated Cannabis Preparations from 1993 to 2008*. *Journal of Forensic Sciences* [interaktyvus]. 2010, **55**(5), 1209–1217 [žiūrėta 2019-03-13]. ISSN 00221198. Prieiga per: doi:10.1111/j.1556-4029.2010.01441.x
- [48] WANG, Mei, Yan-Hong WANG, Bharathi AVULA, Mohamed M RADWAN, Amira S WANAS, Zlatko MEHMEDIC, John VAN ANTWERP, Mahmoud A ELSOHLI ir Ikhlas A KHAN. Quantitative Determination of Cannabinoids in Cannabis and Cannabis Products Using Ultra-High-Performance Supercritical Fluid Chromatography and Diode Array/Mass Spectrometric Detection. *Journal of forensic sciences* [interaktyvus]. 2017, **62**(3), 602–611 [žiūrėta 2019-03-16]. ISSN 1556-4029. Prieiga per: doi:10.1111/1556-4029.13341
- [49] DE MEIJER, E. P. M., H. J. VAN DER KAMP ir F. A. VAN EEUWIJK. Characterisation of Cannabis accessions with regard to cannabinoid content in relation to other plant characters. *Euphytica* [interaktyvus]. 1992, **62**(3), 187–200 [žiūrėta 2019-03-13]. ISSN 0014-2336. Prieiga per: doi:10.1007/BF00041753
- [50] MANDOLINO, G. ir A. CARBONI. Potential of marker-assisted selection in hemp genetic improvement. *Euphytica* [interaktyvus]. 2004, **140**(1–2), 107–120 [žiūrėta 2019-03-13]. ISSN 0014-2336. Prieiga per: doi:10.1007/s10681-004-4759-6
- [51] JIN, Dan, Shengxi JIN ir Jie CHEN. Cannabis Classification Systems and Growth Trends of the North American Medical Cannabis Industry. *The Second Annual Academic Conference of the Specialty Committee of TCM Pharmacognosy of the World Federation of Chinese Medicine Societies*. 2015, 23–27.
- [52] PACIFICO, D., F. MISELLI, A. CARBONI, A. MOSCHELLA ir G. MANDOLINO. Time course of cannabinoid accumulation and chemotype development during the growth of *Cannabis sativa* L. *Euphytica* [interaktyvus]. 2008, **160**(2), 231–240 [žiūrėta 2019-03-14]. ISSN 0014-2336. Prieiga per: doi:10.1007/s10681-007-9543-y
- [53] ANDRE, Christelle, Yvan LARONDELLE ir Daniele EVERS. Dietary Antioxidants and Oxidative Stress from a Human and Plant Perspective: A Review. *Current Nutrition & Food Science* [interaktyvus]. 2010, **6**(1), 2–12 [žiūrėta 2019-03-17]. ISSN 15734013. Prieiga per: doi:10.2174/157340110790909563

- [54] ROSS, Samir A., Mahmoud A. ELSOHLY, Gazi N. N. SULTANA, Zlatko MEHMEDIC, Chowdhury F. HOSSAIN ir Suman CHANDRA. Flavonoid glycosides and cannabinoids from the pollen of *Cannabis sativa* L. *Phytochemical Analysis* [interaktyvus]. 2005, **16**(1), 45–48 [žiūrėta 2019-03-17]. ISSN 0958-0344. Prieiga per: doi:10.1002/pca.809
- [55] LESMA, G., R. CONSONNI, V. GAMBARO, C. REMUZZI, G. RODA, A. SILVANI, V. VECE ir G.L. VISCONTI. Cannabinoid-free *Cannabis sativa* L. grown in the Po valley: evaluation of fatty acid profile, antioxidant capacity and metabolic content. *Natural Product Research* [interaktyvus]. 2014, **28**(21), 1801–1807 [žiūrėta 2019-03-17]. ISSN 1478-6419. Prieiga per: doi:10.1080/14786419.2014.926354
- [56] MARTI, Guillaume, Sylvain SCHNEE, Yannis ANDREY, Claudia SIMOES-PIRES, Pierre-Alain CARRUPT, Jean-Luc WOLFENDER ir Katia GINDRO. Study of Leaf Metabolome Modifications Induced by UV-C Radiations in Representative *Vitis*, *Cissus* and *Cannabis* Species by LC-MS Based Metabolomics and Antioxidant Assays. *Molecules* [interaktyvus]. 2014, **19**(9), 14004–14021 [žiūrėta 2019-03-17]. ISSN 1420-3049. Prieiga per: doi:10.3390/molecules190914004
- [57] SMEDS, Annika I., Patrik C. EKLUND ir Stefan M. WILLFÖR. Content, composition, and stereochemical characterisation of lignans in berries and seeds. *Food Chemistry* [interaktyvus]. 2012, **134**(4), 1991–1998 [žiūrėta 2019-03-17]. ISSN 03088146. Prieiga per: doi:10.1016/j.foodchem.2012.03.133
- [58] EFFERTH, Thomas ir Egon KOCH. Complex Interactions between Phytochemicals. The Multi-Target Therapeutic Concept of Phytotherapy. *Current Drug Targets* [interaktyvus]. 2011, **12**(1), 122–132 [žiūrėta 2019-03-18]. ISSN 13894501. Prieiga per: doi:10.2174/138945011793591626
- [59] KLEIN, Charlotte, Emily KARANGES, Adena SPIRO, Alexander WONG, Jarrah SPENCER, Thanh HUYNH, Nathan GUNASEKARAN, Tim KARL, Leonora E. LONG, Xu-Feng HUANG, Kelly LIU, Jonathon C. ARNOLD ir Iain S. MCGREGOR. Cannabidiol potentiates Δ^9 -tetrahydrocannabinol (THC) behavioural effects and alters THC pharmacokinetics during acute and chronic treatment in adolescent rats. *Psychopharmacology* [interaktyvus]. 2011, **218**(2), 443–457 [žiūrėta 2019-03-18]. ISSN 0033-3158. Prieiga per: doi:10.1007/s00213-011-2342-0
- [60] RUSSO, Ethan B. Taming THC: potential cannabis synergy and phytocannabinoid-terpenoid entourage effects. *British Journal of Pharmacology* [interaktyvus]. 2011, **163**(7), 1344–1364 [žiūrėta 2019-03-18]. ISSN 00071188. Prieiga per: doi:10.1111/j.1476-5381.2011.01238.x
- [61] RUSSO, Ethan ir Geoffrey W. GUY. A tale of two cannabinoids: The therapeutic rationale for combining tetrahydrocannabinol and cannabidiol. *Medical Hypotheses* [interaktyvus]. 2006, **66**(2), 234–246 [žiūrėta 2019-03-18]. ISSN 03069877. Prieiga per: doi:10.1016/j.mehy.2005.08.026
- [62] SINGH, Bharat ir Ram A SHARMA. Plant terpenes: defense responses, phylogenetic analysis, regulation and clinical applications. *3 Biotech* [interaktyvus]. 2015, **5**(2), 129–151 [žiūrėta 2019-03-19]. ISSN 2190-572X. Prieiga per: doi:10.1007/s13205-014-0220-2
- [63] KOZIOL, Agata ir Agnieszka STRYJEWSKA. An overview of the pharmacological properties and potential applications of natural monoterpenes. *Mini reviews in medicinal chemistry* [interaktyvus]. 2014, **14**(14), 1156–1168 [žiūrėta 2019-03-19]. Prieiga per: doi:10.2174/1389557514666141127145820
- [64] BOOTH, Judith K., Jonathan E. PAGE ir Jörg BOHLMANN. Terpene synthases from *Cannabis sativa*. *PLOS ONE* [interaktyvus]. 2017, **12**(3), e0173911 [žiūrėta 2019-03-21]. ISSN 1932-6203. Prieiga per: doi:10.1371/journal.pone.0173911

- [65] KENNEDY, David O, Fiona L DODD, Bernadette C ROBERTSON, Edward J OKELLO, Jonathon L REAY, Andrew B SCHOLEY ir Crystal F HASKELL. Monoterpenoid extract of sage (*Salvia lavandulaefolia*) with cholinesterase inhibiting properties improves cognitive performance and mood in healthy adults. *Journal of Psychopharmacology* [interaktyvus]. 2011, **25**(8), 1088–1100 [žiūrėta 2019-03-21]. ISSN 0269-8811. Prieiga per: doi:10.1177/0269881110385594
- [66] MATSUO, Alisson L., Carlos R. FIGUEIREDO, Denise C. ARRUDA, Felipe V. PEREIRA, Jorge A. BORIN SCUTTI, Mariana H. MASSAOKA, Luiz R. TRAVASSOS, Patricia SARTORELLI ir João H.G. LAGO. α -Pinene isolated from *Schinus terebinthifolius* Raddi (Anacardiaceae) induces apoptosis and confers antimetastatic protection in a melanoma model. *Biochemical and Biophysical Research Communications* [interaktyvus]. 2011, **411**(2), 449–454 [žiūrėta 2019-03-21]. ISSN 0006291X. Prieiga per: doi:10.1016/j.bbrc.2011.06.176
- [67] PORRES-MARTÍNEZ, M., E. GONZÁLEZ-BURGOS, M. E. CARRETERO ir M. P. GÓMEZ-SERRANILLOS. Major selected monoterpenes α -pinene and 1,8-cineole found in *Salvia lavandulifolia* (Spanish sage) essential oil as regulators of cellular redox balance. *Pharmaceutical Biology* [interaktyvus]. 2015, **53**(6), 921–929 [žiūrėta 2019-03-21]. ISSN 1388-0209. Prieiga per: doi:10.3109/13880209.2014.950672
- [68] LI, Xiao-Jun, Yan-Jing YANG, Yu-Sang LI, Wei Kevin ZHANG ir He-Bin TANG. α -Pinene, linalool, and 1-octanol contribute to the topical anti-inflammatory and analgesic activities of frankincense by inhibiting COX-2. *Journal of Ethnopharmacology* [interaktyvus]. 2016, **179**, 22–26 [žiūrėta 2019-03-21]. ISSN 03788741. Prieiga per: doi:10.1016/j.jep.2015.12.039
- [69] KIM, Dae-Seung, Hyun-Ja LEE, Yong-Deok JEON, Yo-Han HAN, Ji-Ye KEE, Hyun-Jeong KIM, Hyun-Ji SHIN, JongWook KANG, Beom Su LEE, Sung-Hoon KIM, Su-Jin KIM, Sang-Hyun PARK, Byung-Min CHOI, Sung-Joo PARK, Jae-Young UM ir Seung-Heon HONG. Alpha-Pinene Exhibits Anti-Inflammatory Activity Through the Suppression of MAPKs and the NF- κ B Pathway in Mouse Peritoneal Macrophages. *The American Journal of Chinese Medicine* [interaktyvus]. 2015, **43**(04), 731–742 [žiūrėta 2019-03-21]. ISSN 0192-415X. Prieiga per: doi:10.1142/S0192415X15500457
- [70] BAE, Gi-Sang, Kyoung-Chel PARK, Sun Bok CHOI, Il-Joo JO, Mee-Ok CHOI, Seung-Heon HONG, Kyung SONG, Ho-Joon SONG ir Sung-Joo PARK. Protective effects of alpha-pinene in mice with cerulein-induced acute pancreatitis. *Life Sciences* [interaktyvus]. 2012, **91**(17–18), 866–871 [žiūrėta 2019-03-21]. ISSN 00243205. Prieiga per: doi:10.1016/j.lfs.2012.08.035
- [71] YANG, H., J. WOO, A. N. PAE, M. Y. UM, N.-C. CHO, K. D. PARK, M. YOON, J. KIM, C. J. LEE ir S. CHO. α -Pinene, a Major Constituent of Pine Tree Oils, Enhances Non-Rapid Eye Movement Sleep in Mice through GABAA-benzodiazepine Receptors. *Molecular Pharmacology* [interaktyvus]. 2016, **90**(5), 530–539 [žiūrėta 2019-03-21]. ISSN 1521-0111. Prieiga per: doi:10.1124/mol.116.105080
- [72] HILLIG, Karl W. A chemotaxonomic analysis of terpenoid variation in Cannabis. *Biochemical Systematics and Ecology* [interaktyvus]. 2004, **32**(10), 875–891. ISSN 03051978. Prieiga per: doi:10.1016/j.bse.2004.04.004
- [73] GUZMÁN-GUTIÉRREZ, S.L., R. GÓMEZ-CANSINO, J.C. GARCÍA-ZEBADÚA, N.C. JIMÉNEZ-PÉREZ ir R. REYES-CHILPA. Antidepressant activity of *Litsea glaucescens* essential oil: Identification of β -pinene and linalool as active principles. *Journal of Ethnopharmacology* [interaktyvus]. 2012, **143**(2), 673–679 [žiūrėta 2019-03-21]. ISSN 03788741. Prieiga per: doi:10.1016/j.jep.2012.07.026
- [74] MOREIRA, Italo J A, Paula P MENEZES, Mairim R SERAFINI, Adriano A S ARAÚJO,

- Lucindo J QUINTANS-JÚNIOR, Leonardo R BONJARDIM, Valter J S FILHO, Daniel B P JÚNIOR, Sandra L SANTOS, Waldecy L JÚNIOR, Luciana SCOTTI, Marcus T SCOTTI ir Márcio R V SANTOS. Characterization and Antihypertensive Effect of the Complex of (-)- β -pinene in β -cyclodextrin. *Current pharmaceutical biotechnology* [interaktyvus]. 2016, **17**(9), 837–45 [žiūrėta 2019-03-21]. ISSN 1873-4316. Prieiga per: doi:10.2174/1389201017666160425115724
- [75] ZHANG, Z., S. GUO, X. LIU ir X. GAO. Synergistic Antitumor Effect of α -pinene and β -pinene with Paclitaxel against Non-small-cell Lung Carcinoma (NSCLC). *Drug Research* [interaktyvus]. 2014, **65**(04), 214–218 [žiūrėta 2019-03-21]. ISSN 2194-9379. Prieiga per: doi:10.1055/s-0034-1377025
- [76] ASTANI, Akram ir Paul SCHNITZLER. Antiviral activity of monoterpenes beta-pinene and limonene against herpes simplex virus in vitro. *Iranian journal of microbiology*. 2014, **6**(3), 149–55. ISSN 2008-3289.
- [77] ULBRICHT, Catherine. Focus: Diabetes. *Journal of Dietary Supplements* [interaktyvus]. 2011, **8**(3), 239–256 [žiūrėta 2019-03-21]. ISSN 1939-0211. Prieiga per: doi:10.3109/19390211.2011.597975
- [78] SCHMITT, Sonja, Ulrich SCHAEFER, Leonhard DOEBLER ir Jürgen REICHLING. Cooperative Interaction of Monoterpenes and Phenylpropanoids on the *in vitro* Human Skin Permeation of Complex Composed Essential Oils. *Planta Medica* [interaktyvus]. 2009, **75**(13), 1381–1385 [žiūrėta 2019-03-21]. ISSN 0032-0943. Prieiga per: doi:10.1055/s-0029-1185744
- [79] BURCU, Gul Baykalir, Ciftci OSMAN, Cetin ASLI, Oztanir Mustafa NAMIK ir Basak Türkmen NEŞE. The protective cardiac effects of B-myrcene after global cerebral ischemia/reperfusion in C57BL/J6 mouse. *Acta Cirurgica Brasileira* [interaktyvus]. 2016, **31**(7), 456–462 [žiūrėta 2019-03-21]. ISSN 0102-8650. Prieiga per: doi:10.1590/S0102-865020160070000005
- [80] CIFTICI, Osman, Ilknur OZDEMIR, Sadettin TANYILDIZI, Sedat YILDIZ ir Hakan OGUZTURK. Antioxidative effects of curcumin, β -myrcene and 1,8-cineole against 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-*p*-dioxin-induced oxidative stress in rats liver. *Toxicology and Industrial Health* [interaktyvus]. 2011, **27**(5), 447–453 [žiūrėta 2019-03-21]. ISSN 0748-2337. Prieiga per: doi:10.1177/0748233710388452
- [81] LIM, Soon Sung, Kuk Hyun SHIN, Hyun Seung BAN, Yong Pil KIM, Sang Hoon JUNG, Yoo Jeung KIM ir Kazuo OHUCHI. Effect of the Essential Oil from the Flowers of *Magnolia sieboldii* on the Lipopolysaccharide-Induced Production of Nitric Oxide and Prostaglandin E2 by Rat Peritoneal Macrophages. *Planta Medica* [interaktyvus]. 2002, **68**(5), 459–462 [žiūrėta 2019-03-21]. ISSN 00320943. Prieiga per: doi:10.1055/s-2002-32085
- [82] MITIĆ-ĆULAFIĆ, D., B. ŽEGURA, B. NIKOLIĆ, B. VUKOVIĆ-GAČIĆ, J. KNEŽEVIĆ-VUKČEVIĆ ir M. FILIPIĆ. Protective effect of linalool, myrcene and eucalyptol against t-butyl hydroperoxide induced genotoxicity in bacteria and cultured human cells. *Food and Chemical Toxicology* [interaktyvus]. 2009, **47**(1), 260–266 [žiūrėta 2019-03-21]. ISSN 02786915. Prieiga per: doi:10.1016/j.fct.2008.11.015
- [83] NUUTINEN, Tarmo. Medicinal properties of terpenes found in *Cannabis sativa* and *Humulus lupulus*. *European Journal of Medicinal Chemistry* [interaktyvus]. 2018, **157**, 198–228 [žiūrėta 2019-03-21]. ISSN 02235234. Prieiga per: doi:10.1016/j.ejmech.2018.07.076
- [84] OKUMURA, Naoko, Hitomi YOSHIDA, Yuri NISHIMURA, Yasuko KITAGISHI ir Satoru MATSUDA. Terpinolene, a component of herbal sage, downregulates AKT1 expression in K562 cells. *Oncology letters* [interaktyvus]. 2012, **3**(2), 321–324 [žiūrėta 2019-03-21].

ISSN 1792-1074. Prieiga per: doi:10.3892/ol.2011.491

- [85] TURKEZ, Hasan, Elanur AYDIN, Fatime GEYIKOGLU ir Damla CETIN. Genotoxic and oxidative damage potentials in human lymphocytes after exposure to terpinolene in vitro. *Cytotechnology* [interaktyvus]. 2015, **67**(3), 409–418 [žiūrėta 2019-03-21]. ISSN 0920-9069. Prieiga per: doi:10.1007/s10616-014-9698-z
- [86] ITO, Ken ir Michiho ITO. The sedative effect of inhaled terpinolene in mice and its structure–activity relationships. *Journal of Natural Medicines* [interaktyvus]. 2013, **67**(4), 833–837 [žiūrėta 2019-03-21]. ISSN 1340-3443. Prieiga per: doi:10.1007/s11418-012-0732-1
- [87] GRASSMANN, J, S HIPPELI, R SPITZENBERGER ir E F ELSTNER. The monoterpene terpinolene from the oil of *Pinus mugo* L. in concert with alpha-tocopherol and beta-carotene effectively prevents oxidation of LDL. *Phytomedicine : international journal of phytotherapy and phytopharmacology*. 2005, **12**(6–7), 416–23. ISSN 0944-7113.
- [88] AGGARWAL, Bharat B. ir Shishir SHISHODIA. Molecular targets of dietary agents for prevention and therapy of cancer. *Biochemical Pharmacology* [interaktyvus]. 2006, **71**(10), 1397–1421 [žiūrėta 2019-03-21]. ISSN 00062952. Prieiga per: doi:10.1016/j.bcp.2006.02.009
- [89] LIMA, Naiana G.P.B., Damião P. DE SOUSA, Flávia Cristina F. PIMENTA, Mateus F. ALVES, Fábio S. DE SOUZA, Rui O. MACEDO, Ricardo B. CARDOSO, Liana Clébia S.L. DE MORAIS, Margareth de Fátima F. MELO DINIZ ir Reinaldo Nóbrega DE ALMEIDA. Anxiolytic-like activity and GC–MS analysis of (R)-(+)-limonene fragrance, a natural compound found in foods and plants. *Pharmacology Biochemistry and Behavior* [interaktyvus]. 2013, **103**(3), 450–454 [žiūrėta 2019-03-21]. ISSN 00913057. Prieiga per: doi:10.1016/j.pbb.2012.09.005
- [90] RUFINO, Ana Teresa, Madalena RIBEIRO, Cátia SOUSA, Fernando JUDAS, Lígia SALGUEIRO, Carlos CAVALEIRO ir Alexandrina Ferreira MENDES. Evaluation of the anti-inflammatory, anti-catabolic and pro-anabolic effects of E-caryophyllene, myrcene and limonene in a cell model of osteoarthritis. *European Journal of Pharmacology* [interaktyvus]. 2015, **750**, 141–150 [žiūrėta 2019-03-21]. ISSN 00142999. Prieiga per: doi:10.1016/j.ejphar.2015.01.018
- [91] KOMIYA, Migiwa, Takashi TAKEUCHI ir Etsumori HARADA. Lemon oil vapor causes an anti-stress effect via modulating the 5-HT and DA activities in mice. *Behavioural Brain Research* [interaktyvus]. 2006, **172**(2), 240–249 [žiūrėta 2019-03-21]. ISSN 01664328. Prieiga per: doi:10.1016/j.bbr.2006.05.006
- [92] CROWELL, P L, A SIAR AYOUBI ir Y D BURKE. Antitumorigenic effects of limonene and perillyl alcohol against pancreatic and breast cancer. *Advances in experimental medicine and biology*. 1996, **401**, 131–6. ISSN 0065-2598.
- [93] MILLER, J. A., K. PAPPAN, P. A. THOMPSON, E. J. WANT, A. P. SISKOS, H. C. KEUN, J. WULFF, C. HU, J. E. LANG ir H.- H. S. CHOW. Plasma Metabolomic Profiles of Breast Cancer Patients after Short-term Limonene Intervention. *Cancer Prevention Research* [interaktyvus]. 2015, **8**(1), 86–93 [žiūrėta 2019-03-21]. ISSN 1940-6207. Prieiga per: doi:10.1158/1940-6207.CAPR-14-0100
- [94] D’ALESSIO, Patrizia A, Massoud MIRSHAHI, Jean-Francois BISSON ir Marie C BENE. Skin repair properties of d-Limonene and perillyl alcohol in murine models. *Anti-inflammatory & anti-allergy agents in medicinal chemistry* [interaktyvus]. 2014, **13**(1), 29–35. ISSN 1875-614X. Prieiga per: doi:10.2174/18715230113126660021
- [95] PICCINELLI, Ana Claudia, Joyce Alencar SANTOS, Elisabete Castelon KONKIEWITZ, Silvia Aparecida OESTERREICH, Anelise Samara Nazari FORMAGIO, Julio CRODA, Edward Benjamim ZIFF ir Cândida Aparecida Leite KASSUYA. Antihyperalgesic and

- antidepressive actions of (R)-(+)-limonene, α -phellandrene, and essential oil from *Schinus terebinthifolius* fruits in a neuropathic pain model. *Nutritional Neuroscience* [interaktyvus]. 2015, **18**(5), 217–224 [žiūrėta 2019-03-21]. ISSN 1028-415X. Prieiga per: doi:10.1179/1476830514Y.0000000119
- [96] REHMAN, Muneeb U, Mir TAHIR, Abdul Quaiyoom KHAN, Rehan KHAN, ODAY-O-HAMIZA, Abdul LATEEF, Syed Kazim HASSAN, Sumaya RASHID, Nemat ALI, Mirza ZEESHAN ir Sarwat SULTANA. δ -limonene suppresses doxorubicin-induced oxidative stress and inflammation via repression of COX-2, iNOS, and NF κ B in kidneys of Wistar rats. *Experimental Biology and Medicine* [interaktyvus]. 2014, **239**(4), 465–476 [žiūrėta 2019-03-21]. ISSN 1535-3702. Prieiga per: doi:10.1177/1535370213520112
- [97] GERTSCH, Jürg, Marco LEONTI, Stefan RADUNER, Ildiko RACZ, J.Z. CHEN, X.Q. XIE, K.H. ALTMANN, Meliha KARSAK ir Andreas ZIMMER. Beta-caryophyllene is a dietary cannabinoid. *Proceedings of the National Academy of Sciences* [interaktyvus]. 2008, **105**(26), 9099. Prieiga per: doi:10.1073/pnas.0803601105
- [98] OLIVEIRA, Cleide Correia de, Clarissa Vasconcelos de OLIVEIRA, Jéssica GRIGOLETTO, Leandro Rodrigo RIBEIRO, Vinícius Rafael FUNCK, Ana Cláudia Beck GRAUNCKE, Thaíze Lopes de SOUZA, Naieli Schiefelbein SOUTO, Ana Flávia FURIAN, Irwin Rose Alencar MENEZES ir Mauro Schneider OLIVEIRA. Anticonvulsant activity of β -caryophyllene against pentylenetetrazol-induced seizures. *Epilepsy & Behavior* [interaktyvus]. 2016, **56**, 26–31 [žiūrėta 2019-03-21]. ISSN 15255050. Prieiga per: doi:10.1016/j.yebeh.2015.12.040
- [99] ALBERTI, Thaís, Wagner BARBOSA, José VIEIRA, Nádia RAPOSO ir Rafael DUTRA. (–)- β -Caryophyllene, a CB2 Receptor-Selective Phytocannabinoid, Suppresses Motor Paralysis and Neuroinflammation in a Murine Model of Multiple Sclerosis. *International Journal of Molecular Sciences* [interaktyvus]. 2017, **18**(4), 691 [žiūrėta 2019-03-21]. ISSN 1422-0067. Prieiga per: doi:10.3390/ijms18040691
- [100] LOU, Jie, Zhipeng TENG, Liangke ZHANG, Jiadan YANG, Lianju MA, Fang WANG, Xiaocui TIAN, Ruidi AN, Mei YANG, Qian ZHANG, Lu XU ir Zhi DONG. β -Caryophyllene/Hydroxypropyl- β -Cyclodextrin Inclusion Complex Improves Cognitive Deficits in Rats with Vascular Dementia through the Cannabinoid Receptor Type 2 -Mediated Pathway. *Frontiers in Pharmacology* [interaktyvus]. 2017, **8**, 2 [žiūrėta 2019-03-21]. ISSN 1663-9812. Prieiga per: doi:10.3389/fphar.2017.00002
- [101] LEGAULT, Jean ir André PICHETTE. Potentiating effect of β -caryophyllene on anticancer activity of α -humulene, isocaryophyllene and paclitaxel. *Journal of Pharmacy and Pharmacology* [interaktyvus]. 2007, **59**(12), 1643–1647 [žiūrėta 2019-03-21]. ISSN 00223573. Prieiga per: doi:10.1211/jpp.59.12.0005
- [102] FIDYT, Klaudyna, Anna FIEDOROWICZ, Leon STRZAŁA ir Antoni SZUMNY. β -caryophyllene and β -caryophyllene oxide-natural compounds of anticancer and analgesic properties. *Cancer Medicine* [interaktyvus]. 2016, **5**(10), 3007–3017 [žiūrėta 2019-03-21]. ISSN 20457634. Prieiga per: doi:10.1002/cam4.816
- [103] BALDISSERA, Matheus D., Carine F. SOUZA, Thirssa H. GRANDO, Lenita M. STEFANI ir Silvia G. MONTEIRO. β -caryophyllene reduces atherogenic index and coronary risk index in hypercholesterolemic rats: The involvement of cardiac oxidative damage. *Chemico-Biological Interactions* [interaktyvus]. 2017, **270**, 9–14 [žiūrėta 2019-03-21]. ISSN 00092797. Prieiga per: doi:10.1016/j.cbi.2017.04.008
- [104] ZHANG, Zhen, Chunfeng YANG, Xinlun DAI, Yu AO ir Yumei LI. Inhibitory effect of trans-caryophyllene (TC) on leukocyte-endothelial attachment. *Toxicology and Applied*

- Pharmacology* [interaktyvus]. 2017, **329**, 326–333 [žiūrėta 2019-03-21]. ISSN 0041008X. Prieiga per: doi:10.1016/j.taap.2017.06.016
- [105] VARGA, Zoltan V., Csaba MATYAS, Katalin ERDELYI, Resat CINAR, Daniela NIERI, Andrea CHICCA, Balazs Tamas NEMETH, Janos PALOCZI, Tamas LAJTOS, Lukas COREY, Gyorgy HASKO, Bin GAO, George KUNOS, Jürg GERTSCH ir Pal PACHER. β -Caryophyllene protects against alcoholic steatohepatitis by attenuating inflammation and metabolic dysregulation in mice. *British Journal of Pharmacology* [interaktyvus]. 2018, **175**(2), 320–334 [žiūrėta 2019-03-21]. ISSN 00071188. Prieiga per: doi:10.1111/bph.13722
- [106] PARK, Kyung-Ran, Dongwoo NAM, Hyung-Mun YUN, Seok-Geun LEE, Hyeung-Jin JANG, Gautam SETHI, Somi K. CHO ir Kwang Seok AHN. β -Caryophyllene oxide inhibits growth and induces apoptosis through the suppression of PI3K/AKT/mTOR/S6K1 pathways and ROS-mediated MAPKs activation. *Cancer Letters* [interaktyvus]. 2011, **312**(2), 178–188 [žiūrėta 2019-03-21]. ISSN 03043835. Prieiga per: doi:10.1016/j.canlet.2011.08.001
- [107] SAIN, Soumyadeep, Pravin NAOGHARE, S. DEVI, Atul DAIWILE, K. KRISHNAMURTHI, P. ARRIGO ir T. CHAKRABARTI. Anti-inflammatory & anti-allergy agents in medicinal chemistry. *Medicinal Chemistry*. B.m.: Bentham Science Publishers, 2006, p. 45–55. ISSN 1871-5230.
- [108] CHAVAN, M.J., P.S. WAKTE ir D.B. SHINDE. Analgesic and anti-inflammatory activity of Caryophyllene oxide from *Annona squamosa* L. bark. *Phytomedicine* [interaktyvus]. 2010, **17**(2), 149–151 [žiūrėta 2019-03-21]. ISSN 09447113. Prieiga per: doi:10.1016/j.phymed.2009.05.016
- [109] SENSCH, Oliver, Wolfgang VIERLING, Wolfgang BRANDT ir Melchior REITER. Effects of inhibition of calcium and potassium currents in guinea-pig cardiac contraction: comparison of β -caryophyllene oxide, eugenol, and nifedipine. *British Journal of Pharmacology* [interaktyvus]. 2000, **131**(6), 1089–1096 [žiūrėta 2019-03-21]. ISSN 00071188. Prieiga per: doi:10.1038/sj.bjp.0703673
- [110] YANG, D, L MICHEL, J P CHAUMONT ir J MILLET-CLERC. Use of caryophyllene oxide as an antifungal agent in an in vitro experimental model of onychomycosis. *Mycopathologia* [interaktyvus]. 1999, **148**(2), 79–82. ISSN 0301-486X. Prieiga per: doi:10.1023/A:1007178924408
- [111] COTÉ, Héloïse, Marie-Anne BOUCHER, André PICHETTE ir Jean LEGAULT. Anti-Inflammatory, Antioxidant, Antibiotic, and Cytotoxic Activities of *Tanacetum vulgare* L. Essential Oil and Its Constituents. *Medicines* [interaktyvus]. 2017, **4**(2), 34 [žiūrėta 2019-03-21]. ISSN 2305-6320. Prieiga per: doi:10.3390/medicines4020034
- [112] ROGERIO, Alexandre P., Edinéia L. ANDRADE, Daniela F.P. LEITE, Cláudia P. FIGUEIREDO ir João B. CALIXTO. Preventive and therapeutic anti-inflammatory properties of the sesquiterpene α -humulene in experimental airways allergic inflammation. *British Journal of Pharmacology* [interaktyvus]. 2009, **158**(4), 1074–1087 [žiūrėta 2019-03-22]. ISSN 00071188. Prieiga per: doi:10.1111/j.1476-5381.2009.00177.x
- [113] SATSU, Hideo, Tomoko MATSUDA, Takayuki TOSHIMITSU, Akira MORI, Tatsumasa MAE, Misuzu TSUKAGAWA, Mikio KITAHARA ir Makoto SHIMIZU. Regulation of interleukin-8 secretion in human intestinal epithelial Caco-2 cells by α -humulene. *BioFactors (Oxford, England)*. 2004, **21**(1–4), 137–9. ISSN 0951-6433.
- [114] LEGAULT, Jean, Wivecke DAHL, Eric DEBITON, André PICHETTE ir Jean-Claude MADELMONT. Antitumor Activity of Balsam Fir Oil: Production of Reactive Oxygen Species Induced by α -Humulene as Possible Mechanism of Action. *Planta Medica* [interaktyvus]. 2003, **69**(5), 402–407 [žiūrėta 2019-03-22]. ISSN 0032-0943. Prieiga

per: doi:10.1055/s-2003-39695

- [115] CHIRUMBOLO, Salvatore ir Geir BJØRKLUND. The sesquiterpene α -bisabolol in the adipocyte–cancer desmoplastic crosstalk: does it have an action on epithelial–mesenchymal transition mechanisms? *International Journal of Clinical Oncology* [interaktyvus]. 2017, **22**(2), 222–228 [žiūrėta 2019-03-22]. ISSN 1341-9625. Prieiga per: doi:10.1007/s10147-016-1072-z
- [116] CAVALIERI, Elisabetta, Antonella RIGO, Massimiliano BONIFACIO, Alessandra DE PRATI, Emanuele GUARDALBEN, Christian BERGAMINI, Romana FATO, Giovanni PIZZOLO, Hisanori SUZUKI ir Fabrizio VINANTE. Pro-apoptotic activity of α -bisabolol in preclinical models of primary human acute leukemia cells. *Journal of Translational Medicine* [interaktyvus]. 2011, **9**(1), 45 [žiūrėta 2019-03-22]. ISSN 1479-5876. Prieiga per: doi:10.1186/1479-5876-9-45
- [117] MOURA ROCHA N.F, VENÂNCIO E.T, MOURA B.A, GOMES SILVA M.I, AQUINO NETO M.R, VASCONCELOS RIOS E.R, DE SOUSA D.P, MENDES VASCONCELOS S.M, DE FRANÇA FONTELES M.M ir DE SOUSA F.C. Gastroprotection of (-)- α -bisabolol on acute gastric mucosal lesions in mice: the possible involved pharmacological mechanisms. *Fundamental & Clinical Pharmacology* [interaktyvus]. 2010, **24**(1), 63–71. ISSN 07673981. Prieiga per: doi:10.1111/j.1472-8206.2009.00726.x
- [118] SAMPAIO, Tiago Lima, Ramon Róseo Paula Pessoa Bezerra de MENEZES, Marcus Felipe Bezerra DA COSTA, Gdayllon Cavalcante MENESES, Mauren Cristina Villalta ARRIETA, Adriano José Maia CHAVES FILHO, Glayciane Bezerra DE MORAIS, Alexandre Braga LIBÓRIO, Renata Sousa ALVES, Janaína Serra Azul Monteiro EVANGELISTA ir Alice Maria Costa MARTINS. Nephroprotective effects of (-)- α -bisabolol against ischemic-reperfusion acute kidney injury. *Phytomedicine* [interaktyvus]. 2016, **23**(14), 1843–1852 [žiūrėta 2019-03-22]. ISSN 09447113. Prieiga per: doi:10.1016/j.phymed.2016.11.008
- [119] D'ALMEIDA, Ana Paula, Maria PACHECO DE OLIVEIRA, Éverton DE SOUZA, Diego DE SÁ COUTINHO, Bianca CIAMBARELLA, Cristiano GOMES, Thatiana TERROSO, Sílvia GUTERRES, Adriana POHLMANN, Patrícia SILVA, Marco MARTINS ir Andressa BERNARDI. α -bisabolol-loaded lipid-core nanocapsules reduce lipopolysaccharide-induced pulmonary inflammation in mice. *International Journal of Nanomedicine* [interaktyvus]. 2017, **12**, 4479–4491 [žiūrėta 2019-03-22]. ISSN 1178-2013. Prieiga per: doi:10.2147/IJN.S130798
- [120] MAURYA, Anil K, Monika SINGH, Vijaya DUBEY, Suchita SRIVASTAVA, Suaib LUQMAN ir Dnyaneshwar U BAWANKULE. α -(-)-bisabolol reduces pro-inflammatory cytokine production and ameliorates skin inflammation. *Current pharmaceutical biotechnology*. 2014, **15**(2), 173–181. ISSN 1873-4316.
- [121] TABARI, Mohaddeseh Abouhosseini ir Mohammad Amir Bagherpour TEHRANI. Evidence for the involvement of the GABAergic, but not serotonergic transmission in the anxiolytic-like effect of bisabolol in the mouse elevated plus maze. *Naunyn-Schmiedeberg's Archives of Pharmacology* [interaktyvus]. 2017, **390**(10), 1041–1046 [žiūrėta 2019-03-22]. ISSN 0028-1298. Prieiga per: doi:10.1007/s00210-017-1405-0
- [122] OLIVEIRA, Fernanda de Sousa, Thiago Sampaio de FREITAS, Rafael Pereira da CRUZ, Maria do Socorro COSTA, Raimundo Luiz Silva PEREIRA, Lucindo José QUINTANS-JÚNIOR, Tatianny de Araújo ANDRADE, Paula dos Passos MENEZES, Bruna Maria Hipólito de SOUSA, Paula Santos NUNES, Mairim Russo SERAFINI, Irwin Rose Alencar de MENEZES, Adriano Antunes de Souza ARAÚJO ir Henrique Douglas Melo COUTINHO. Evaluation of the antibacterial and modulatory potential of α -bisabolol, β -cyclodextrin and α -bisabolol/ β -cyclodextrin complex. *Biomedicine & Pharmacotherapy*

- [interaktyvus]. 2017, **92**, 1111–1118 [žiūrėta 2019-03-22]. ISSN 07533322. Prieiga per: doi:10.1016/j.biopha.2017.06.020
- [123] DI MARZO, Vincenzo ir Fabiana PISCITELLI. The Endocannabinoid System and its Modulation by Phytocannabinoids. *Neurotherapeutics* [interaktyvus]. 2015, **12**(4), 692–698 [žiūrėta 2019-03-22]. ISSN 1933-7213. Prieiga per: doi:10.1007/s13311-015-0374-6
- [124] SZABO, B. ir E. SCHLICKER. Effects of Cannabinoids on Neurotransmission. *Cannabinoids* [interaktyvus]. Berlin/Heidelberg: Springer-Verlag, 2005, p. 327–365. Prieiga per: doi:10.1007/3-540-26573-2_11
- [125] CABRAL, G A ir A STAAB. Effects on the immune system. *Handbook of experimental pharmacology*. 2005, **168**, 385–423. ISSN 0171-2004.
- [126] PERTWEE, R G. The diverse CB1 and CB2 receptor pharmacology of three plant cannabinoids: delta9-tetrahydrocannabinol, cannabidiol and delta9-tetrahydrocannabivarin. *British journal of pharmacology* [interaktyvus]. 2008, **153**(2), 199–215. ISSN 0007-1188. Prieiga per: doi:10.1038/sj.bjp.0707442
- [127] HILL, Andrew J., Claire M. WILLIAMS, Benjamin J. WHALLEY ir Gary J. STEPHENS. Phytocannabinoids as novel therapeutic agents in CNS disorders. *Pharmacology & Therapeutics* [interaktyvus]. 2012, **133**(1), 79–97 [žiūrėta 2019-03-24]. ISSN 01637258. Prieiga per: doi:10.1016/j.pharmthera.2011.09.002
- [128] WALSH, Declan, Kristine A NELSON ir Fade Aziz MAHMOUD. Established and potential therapeutic applications of cannabinoids in oncology. *Supportive care in cancer: official journal of the Multinational Association of Supportive Care in Cancer* [interaktyvus]. 2003, **11**(3), 137–43 [žiūrėta 2019-03-24]. ISSN 0941-4355. Prieiga per: doi:10.1007/s00520-002-0387-7
- [129] HAMPSON, A J, M GRIMALDI, J AXELROD ir D WINK. Cannabidiol and (-)Delta9-tetrahydrocannabinol are neuroprotective antioxidants. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 1998, **95**(14), 8268–73. ISSN 0027-8424.
- [130] TREMBLY, B. ir SHERMAN. M. Double-blind clinical study of cannabidiol as a secondary anticonvulsant. *Presented at Marijuana '90 Int. Conf. on Cannabis and Cannabinoids, Kolympari (Crete)*. 1990, **11**, 5.
- [131] MISHIMA, Kenichi, Kazuhide HAYAKAWA, Kohji ABE, Tomoaki IKEDA, Nobuaki EGASHIRA, Katsunori IWASAKI ir Michihiro FUJIWARA. Cannabidiol Prevents Cerebral Infarction Via a Serotonergic 5-Hydroxytryptamine_{1A} Receptor-Dependent Mechanism. *Stroke* [interaktyvus]. 2005, **36**(5), 1071–1076 [žiūrėta 2019-03-25]. ISSN 0039-2499. Prieiga per: doi:10.1161/01.STR.0000163083.59201.34
- [132] LIGRESTI, A., Aniello Schiano MORIELLO, Katarzyna STAROWICZ, Isabel MATIAS, Simona PISANTI, Luciano DE PETROCELLIS, Chiara LAEZZA, Giuseppe PORTELLA, Maurizio BIFULCO ir Vincenzo DI MARZO. Antitumor Activity of Plant Cannabinoids with Emphasis on the Effect of Cannabidiol on Human Breast Carcinoma. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics* [interaktyvus]. 2006, **318**(3), 1375–1387 [žiūrėta 2019-03-25]. ISSN 0022-3565. Prieiga per: doi:10.1124/jpet.106.105247
- [133] APPENDINO, Giovanni, Simon GIBBONS, Anna GIANA, Alberto PAGANI, Gianpaolo GRASSI, Michael STAVRI, Eileen SMITH ir M. Mukhlesur RAHMAN. Antibacterial Cannabinoids from *Cannabis sativa*: A Structure-Activity Study. *Journal of Natural Products* [interaktyvus]. 2008, **71**(8), 1427–1430 [žiūrėta 2019-03-25]. ISSN 0163-3864. Prieiga per: doi:10.1021/np8002673
- [134] DE PETROCELLIS, Luciano, Alessia LIGRESTI, Aniello Schiano MORIELLO, Marco ALLARÀ, Tiziana BISOGNO, Stefania PETROSINO, Colin G STOTT ir Vincenzo DI

- MARZO. Effects of cannabinoids and cannabinoid-enriched *Cannabis* extracts on TRP channels and endocannabinoid metabolic enzymes. *British Journal of Pharmacology* [interaktyvus]. 2011, **163**(7), 1479–1494 [žiūrėta 2019-03-25]. ISSN 00071188. Prieiga per: doi:10.1111/j.1476-5381.2010.01166.x
- [135] TUBARO, Aurelia, Anna GIANGASPERO, Silvio SOSA, Roberto NEGRI, Gianpaolo GRASSI, Salvatore CASANO, Roberto Della LOGGIA ir Giovanni APPENDINO. Comparative topical anti-inflammatory activity of cannabinoids and cannabivarin. *Fitoterapia* [interaktyvus]. 2010, **81**(7), 816–819 [žiūrėta 2019-03-25]. ISSN 0367326X. Prieiga per: doi:10.1016/j.fitote.2010.04.009
- [136] MAIONE, Sabatino, Fabiana PISCITELLI, Luisa GATTA, Daniela VITA, Luciano DE PETROCELLIS, Enza PALAZZO, Vito DE NOVELLIS ir Vincenzo DI MARZO. Non-psychoactive cannabinoids modulate the descending pathway of antinociception in anaesthetized rats through several mechanisms of action. *British Journal of Pharmacology* [interaktyvus]. 2011, **162**(3), 584–596 [žiūrėta 2019-03-25]. ISSN 00071188. Prieiga per: doi:10.1111/j.1476-5381.2010.01063.x
- [137] DEYO R. ir MUSTY R. A cannabichromene (CBC) extract alters behavioral despair on the mouse tail suspension test of depression. Proceedings 2003 Symposium on the Cannabinoids. International Cannabinoid Research Society: Cornwall, ON. . 2003, p. 146.
- [138] DE PETROCELLIS, L., V. VELLANI, A. SCHIANO-MORIELLO, P. MARINI, P. C. MAGHERINI, P. ORLANDO ir V. DI MARZO. Plant-Derived Cannabinoids Modulate the Activity of Transient Receptor Potential Channels of Ankyrin Type-1 and Melastatin Type-8. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics* [interaktyvus]. 2008, **325**(3), 1007–1015 [žiūrėta 2019-03-25]. ISSN 0022-3565. Prieiga per: doi:10.1124/jpet.107.134809
- [139] MCPARTLAND, John M. ir Ethan B. RUSSO. Cannabis and Cannabis Extracts. *Journal of Cannabis Therapeutics* [interaktyvus]. 2001, **1**(3–4), 103–132 [žiūrėta 2019-03-26]. ISSN 1529-9775. Prieiga per: doi:10.1300/J175v01n03_08
- [140] SCUTT, A. ir E. M. WILLIAMSON. Cannabinoids Stimulate Fibroblastic Colony Formation by Bone Marrow Cells Indirectly via CB2 Receptors. *Calcified Tissue International* [interaktyvus]. 2007, **80**(1), 50–59 [žiūrėta 2019-03-26]. ISSN 0171-967X. Prieiga per: doi:10.1007/s00223-006-0171-7
- [141] HOLLAND, Michelle L., John D. ALLEN ir Jonathon C. ARNOLD. Interaction of plant cannabinoids with the multidrug transporter ABCB1 (MRP1). *European Journal of Pharmacology* [interaktyvus]. 2008, **591**(1–3), 128–131 [žiūrėta 2019-03-26]. ISSN 00142999. Prieiga per: doi:10.1016/j.ejphar.2008.06.079
- [142] THOMAS, Adèle, Lesley A STEVENSON, Kerrie N WEASE, Martin R PRICE, Gemma BAILLIE, Ruth A ROSS ir Roger G PERTWEE. Evidence that the plant cannabinoid Δ^9 -tetrahydrocannabivarin is a cannabinoid CB 1 and CB 2 receptor antagonist. *British Journal of Pharmacology* [interaktyvus]. 2005, **146**(7), 917–926 [žiūrėta 2019-03-26]. ISSN 00071188. Prieiga per: doi:10.1038/sj.bjp.0706414
- [143] RIEDEL, Gernot, Paola FADDA, Susan MCKILLOP-SMITH, Roger G PERTWEE, Bettina PLATT ir Lianne ROBINSON. Synthetic and plant-derived cannabinoid receptor antagonists show hypophagic properties in fasted and non-fasted mice. *British journal of pharmacology* [interaktyvus]. 2009, **156**(7), 1154–66. ISSN 1476-5381. Prieiga per: doi:10.1111/j.1476-5381.2008.00107.x
- [144] BOLOGNINI, Daniele, Barbara COSTA, Sabatino MAIONE, Francesca COMELLI, Pietro MARINI, Vincenzo DI MARZO, Daniela PAROLARO, Ruth A ROSS, Lisa A GAUSON, Maria G CASCIO ir Roger G PERTWEE. The plant cannabinoid Δ^9 -tetrahydrocannabivarin

- can decrease signs of inflammation and inflammatory pain in mice. *British Journal of Pharmacology* [interaktyvus]. 2010, **160**(3), 677–687 [žiūrėta 2019-03-26]. ISSN 00071188. Prieiga per: doi:10.1111/j.1476-5381.2010.00756.x
- [145] AHMED, Safwat A., Samir A. ROSS, Desmond SLADE, Mohamed M. RADWAN, Fazila ZULFIQAR, Mahmoud A. ELSOHLI, Yan-Tong XU, Eddy VIARD, Robert C SPETH, Vardan T KARAMYAN ir M A ELSOHLI. Cannabinoid Ester Constituents from High-Potency *Cannabis sativa*. *Journal of Natural Products* [interaktyvus]. 2008, **71**(4), 536–542 [žiūrėta 2019-03-26]. ISSN 0163-3864. Prieiga per: doi:10.1021/np070454a
- [146] ROCK, EM ir LA PARKER. Effect of low doses of cannabidiolic acid and ondansetron on LiCl-induced conditioned gaping (a model of nausea-induced behaviour) in rats. *British Journal of Pharmacology* [interaktyvus]. 2013, **169**(3), 685–692 [žiūrėta 2019-03-26]. ISSN 00071188. Prieiga per: doi:10.1111/bph.12162
- [147] ROCK, Erin M., Cheryl L. LIMEBEER, Roshan NAVARATNAM, Martin A. STICHT, Natasha BONNER, Kristin ENGELAND, Rachel DOWNEY, Heather MORRIS, Meagan JACKSON ir Linda A. PARKER. A comparison of cannabidiolic acid with other treatments for anticipatory nausea using a rat model of contextually elicited conditioned gaping. *Psychopharmacology* [interaktyvus]. 2014, **231**(16), 3207–3215 [žiūrėta 2019-03-26]. ISSN 0033-3158. Prieiga per: doi:10.1007/s00213-014-3498-1
- [148] TAKEDA, S., K. MISAWA, I. YAMAMOTO ir K. WATANABE. Cannabidiolic Acid as a Selective Cyclooxygenase-2 Inhibitory Component in Cannabis. *Drug Metabolism and Disposition* [interaktyvus]. 2008, **36**(9), 1917–1921 [žiūrėta 2019-03-26]. ISSN 0090-9556. Prieiga per: doi:10.1124/dmd.108.020909
- [149] ARTS, Ilja CW ir Peter CH HOLLMAN. Polyphenols and disease risk in epidemiologic studies. *The American Journal of Clinical Nutrition* [interaktyvus]. 2005, **81**(1), 317S–325S [žiūrėta 2019-03-26]. ISSN 0002-9165. Prieiga per: doi:10.1093/ajcn/81.1.317S
- [150] SI, D., Y. WANG, Y.-H. ZHOU, Y. GUO, J. WANG, H. ZHOU, Z.-S. LI ir J. P. FAWCETT. Mechanism of CYP2C9 Inhibition by Flavones and Flavonols. *Drug Metabolism and Disposition* [interaktyvus]. 2009, **37**(3), 629–634 [žiūrėta 2019-03-26]. ISSN 0090-9556. Prieiga per: doi:10.1124/dmd.108.023416
- [151] SALGUEIRO, J B, P ARDENGHI, M DIAS, M B FERREIRA, I IZQUIERDO ir J H MEDINA. Anxiolytic natural and synthetic flavonoid ligands of the central benzodiazepine receptor have no effect on memory tasks in rats. *Pharmacology, biochemistry, and behavior* [interaktyvus]. 1997, **58**(4), 887–91. ISSN 0091-3057. Prieiga per: doi:https://doi.org/10.1016/S0091-3057(97)00054-3
- [152] WERZ, Oliver, Julia SEEGER, Anja Maria SCHAIKLE, Christina WEINIGEL, Dagmar BARZ, Andreas KOEBERLE, Gianna ALLEGRONE, Federica POLLASTRO, Lorenzo ZAMPIERI, Gianpaolo GRASSI ir Giovanni APPENDINO. Cannflavins from hemp sprouts, a novel cannabinoid-free hemp food product, target microsomal prostaglandin E2 synthase-1 and 5-lipoxygenase. *PharmaNutrition* [interaktyvus]. 2014, **2**(3), 53–60 [žiūrėta 2019-03-26]. ISSN 2213-4344. Prieiga per: doi:10.1016/J.PHANU.2014.05.001
- [153] SUN, J, YF GU, XQ SU, MM LI, HX HUO, J ZHANG, KW ZENG, Q ZHANG, YF ZHAO, J LI ir PF TU. Anti-inflammatory lignanamides from the roots of *Solanum melongena* L. *Fitoterapia* [interaktyvus]. 2014, **98**, 110–116 [žiūrėta 2019-03-26]. ISSN 0367-326X. Prieiga per: doi:10.1016/J.FITOTE.2014.07.012
- [154] MA, Cui-Ying, Wing Keung LIU ir Chun-Tao CHE. Lignanamides and Nonalkaloidal Components of *Hyoscyamus niger* Seeds. *Journal of Natural Products* [interaktyvus]. 2002, **65**(2), 206–209 [žiūrėta 2019-03-26]. ISSN 0163-3864. Prieiga per: doi:10.1021/np010073b

- [155] WANG, Cheng-Zhi, Xiao-Qing MA, Dong-Hui YANG, Zhi-Rong GUO, Gui-Rong LIU, Ge-Xin ZHAO, Jie TANG, Ya-Nan ZHANG, Miao MA, Shao-Qing CAI, Bao-Shan KU ir Shu-Lin LIU. Production of enterodiol from defatted flaxseeds through biotransformation by human intestinal bacteria. *BMC Microbiology* [interaktyvus]. 2010, **10**(1), 115 [žiūrėta 2019-03-26]. ISSN 1471-2180. Prieiga per: doi:10.1186/1471-2180-10-115
- [156] DAI, Jin ir Russell J. MUMPER. Plant Phenolics: Extraction, Analysis and Their Antioxidant and Anticancer Properties. *Molecules* [interaktyvus]. 2010, **15**(10), 7313–7352 [žiūrėta 2019-03-27]. ISSN 1420-3049. Prieiga per: doi:10.3390/molecules15107313
- [157] HANDA, S., S.P. KHANUJA, G. LONGO ir D.D. RAKESH. *Extraction technologies for medicinal and aromatic plants*. Trieste (Italy): United Nations Industrial Development Organization and the International Centre for Science and High Technology, 2008.
- [158] WANG, Lijun ir Curtis L. WELLER. Recent advances in extraction of nutraceuticals from plants. *Trends in Food Science and Technology* [interaktyvus]. 2006, **17**(6), 300–312. ISSN 09242244. Prieiga per: doi:10.1016/j.tifs.2005.12.004
- [159] LUQUE DE CASTRO, M.D ir L.E GARCÍA-AYUSO. Soxhlet extraction of solid materials: an outdated technique with a promising innovative future. *Analytica Chimica Acta* [interaktyvus]. 1998, **369**(1–2), 1–10 [žiūrėta 2019-03-28]. ISSN 00032670. Prieiga per: doi:10.1016/S0003-2670(98)00233-5
- [160] SIHVONEN, M, E JÄRVENPÄÄ, V HIETANIEMI ir R HUOPALAHTI. Advances in supercritical carbon dioxide technologies. *Trends in Food Science & Technology* [interaktyvus]. 1999, **10**(6–7), 217–222 [žiūrėta 2019-03-28]. ISSN 0924-2244. Prieiga per: doi:10.1016/S0924-2244(99)00049-7
- [161] HERRERO, Miguel, Jose A. MENDIOLA, Alejandro CIFUENTES ir Elena IBÁÑEZ. Supercritical fluid extraction: Recent advances and applications. *Journal of Chromatography A* [interaktyvus]. 2010, **1217**(16), 2495–2511 [žiūrėta 2019-03-28]. ISSN 00219673. Prieiga per: doi:10.1016/j.chroma.2009.12.019
- [162] RAJA, Pavan M. V. ir ANDREW R. BARRON. *Basic Principles of Supercritical Fluid Chromatography and Supercritical Fluid Extraction* [interaktyvus]. 2019. Prieiga per: [https://chem.libretexts.org/Bookshelves/Analytical_Chemistry/Book%3A_Physical_Methods_in_Chemistry_and_Nano_Science_\(Barron\)/03%3A_Chromatography/03.3%3A_Basic_Principles_of_Supercritical_Fluid_Chromatography_and_Supercritical_Fluid_Extraction](https://chem.libretexts.org/Bookshelves/Analytical_Chemistry/Book%3A_Physical_Methods_in_Chemistry_and_Nano_Science_(Barron)/03%3A_Chromatography/03.3%3A_Basic_Principles_of_Supercritical_Fluid_Chromatography_and_Supercritical_Fluid_Extraction)
- [163] LANG, Q ir C M WAI. Supercritical fluid extraction in herbal and natural product studies - a practical review. *Talanta* [interaktyvus]. 2001, **53**(4), 771–82. ISSN 1873-3573. Prieiga per: doi:[https://doi.org/10.1016/S0039-9140\(00\)00557-9](https://doi.org/10.1016/S0039-9140(00)00557-9)
- [164] HAMBURGER, M., D. BAUMANN ir S. ADLER. Supercritical carbon dioxide extraction of selected medicinal plants—effects of high pressure and added ethanol on yield of extracted substances. *Phytochemical Analysis* [interaktyvus]. 2004, **15**(1), 46–54 [žiūrėta 2019-03-28]. ISSN 0958-0344. Prieiga per: doi:10.1002/pca.743
- [165] RAVENTÓS, M., S. DUARTE ir R. ALARCÓN. Application and Possibilities of Supercritical CO₂ Extraction in Food Processing Industry: An Overview. *Food Science and Technology International* [interaktyvus]. 2002, **8**(5), 269–284 [žiūrėta 2019-03-28]. ISSN 1082-0132. Prieiga per: doi:10.1106/108201302029451
- [166] POURMORTAZAVI, Seied Mahdi ir Seiedeh Somayyeh HAJIMIRSADEGHI. Supercritical fluid extraction in plant essential and volatile oil analysis. *Journal of chromatography. A* [interaktyvus]. 2007, **1163**(1–2), 2–24 [žiūrėta 2019-03-28]. ISSN 0021-9673. Prieiga per: doi:10.1016/j.chroma.2007.06.021
- [167] DANILČENKO, Honorta, Jurgita KULAITIENĖ, Živilė TARASEVIČIENĖ ir Ernestas

- ZALECKAS. *Instrumentinė ir juslinė maisto produktų analizė*. 2011. ISBN 978-609-449-019-4.
- [168] RAHARJO, Tri J. ir Robert VERPOORTE. Methods for the analysis of cannabinoids in biological materials: a review. *Phytochemical Analysis* [interaktyvus]. 2004, **15**(2), 79–94 [žiūrėta 2019-03-29]. ISSN 0958-0344. Prieiga per: doi:10.1002/pca.753
- [169] ANDRE, Christelle M, Jean-Francois HAUSMAN ir Gea GUERRIERO. Cannabis sativa: The Plant of the Thousand and One Molecules. *Frontiers in plant science* [interaktyvus]. 2016, **7**, 19 [žiūrėta 2019-03-30]. ISSN 1664-462X. Prieiga per: doi:10.3389/fpls.2016.00019
- [170] BENELLI, Giovanni, Roman PAVELA, Riccardo PETRELLI, Loredana CAPPELLACCI, Giuseppe SANTINI, Dennis FIORINI, Stefania SUT, Stefano DALL'ACQUA, Angelo CANALE ir Filippo MAGGI. The essential oil from industrial hemp (*Cannabis sativa* L.) by-products as an effective tool for insect pest management in organic crops. *Industrial Crops and Products* [interaktyvus]. 2018, **122**, 308–315 [žiūrėta 2019-03-31]. ISSN 09266690. Prieiga per: doi:10.1016/j.indcrop.2018.05.032
- [171] SILVA, J., W. ABEBE, S.M SOUSA, V.G DUARTE, M.I MACHADO ir F.J MATOS. Analgesic and anti-inflammatory effects of essential oils of Eucalyptus. *Journal of ethnopharmacology* [interaktyvus]. 2003, **89**(2–3), 277–83. ISSN 0378-8741. Prieiga per: doi:10.1016/j.jep.2003.09.007
- [172] KIECOLT-GLASER, Janice K., Jennifer E. GRAHAM, William B. MALARKEY, Kyle PORTER, Stanley LEMESHOW ir Ronald GLASER. Olfactory influences on mood and autonomic, endocrine, and immune function. *Psychoneuroendocrinology* [interaktyvus]. 2008, **33**(3), 328–339 [žiūrėta 2019-03-29]. ISSN 03064530. Prieiga per: doi:10.1016/j.psyneuen.2007.11.015
- [173] Europos Parlamento ir Tarybos reglamentas (EB) Nr. 1334/2008 dėl kvapiųjų medžiagų ir aromatinių savybių turinčių tam tikrų maisto ingredientų naudojimo maisto produktuose ir ant jų.
- [174] GYAWALI, Rabin ir Salam A. IBRAHIM. Natural products as antimicrobial agents. *Food Control* [interaktyvus]. 2014, **46**, 412–429 [žiūrėta 2019-03-31]. ISSN 09567135. Prieiga per: doi:10.1016/j.foodcont.2014.05.047
- [175] IZZO, Angelo A., Francesca BORRELLI, Raffaele CAPASSO, Vincenzo DI MARZO ir Raphael MECHOULAM. Non-psychotropic plant cannabinoids: new therapeutic opportunities from an ancient herb. *Trends in Pharmacological Sciences* [interaktyvus]. 2009, **30**(10), 515–527 [žiūrėta 2019-03-31]. ISSN 01656147. Prieiga per: doi:10.1016/j.tips.2009.07.006
- [176] GERTSCH, Jürg. Analytical and Pharmacological Challenges in Cannabis Research. *Planta Medica* [interaktyvus]. 2018, **84**(04), 213–213 [žiūrėta 2019-03-31]. ISSN 0032-0943. Prieiga per: doi:10.1055/s-0044-101051
- [177] AOAC. *Official Methods of Analysis of Association of Official Analytical Chemists (15th ed.) Association of Official Analytical Chemists. Washington, DC. 1995.*
- [178] ADAMS, R. P. *Identification of essential oil components by Gas chromatography/Mass spectrometry (4th Ed.)*. B.m.: Allured Business Media, Carol Stream, IL, U.S.A., 2009.
- [179] FOLIN, O. & CIOCALTEU, V. Tyrosine and Tryptophane in Proteins. *J. Biol. Chem.* 1927, (73), 627–650.
- [180] RE, Roberta, Nicoletta PELLEGRINI, Anna PROTEGGENTE, Ananth PANNALA, Min YANG ir Catherine RICE-EVANS. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Radical Biology and Medicine* [interaktyvus]. 1999, **26**(9–10), 1231–1237 [žiūrėta 2019-04-04]. ISSN 08915849. Prieiga per: doi:10.1016/S0891-

- [181] PRIOR, Ronald L., Ha HOANG, Liwei GU, Xianli WU, Mara BACCHIOCCA, Luke HOWARD, Maureen HAMPSCH-WOODILL, Dejian HUANG, Boxin OU ir Robert JACOB. Assays for Hydrophilic and Lipophilic Antioxidant Capacity (oxygen radical absorbance capacity (ORAC_{FL})) of Plasma and Other Biological and Food Samples. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* [interaktyvus]. 2003, **51**(11), 3273–3279 [žiūrėta 2019-04-04]. ISSN 0021-8561. Prieiga per: doi:10.1021/jf0262256
- [182] AMADUCCI, Stefano, Michele COLAUZZI, Alessandro ZATTA ir Gianpietro VENTURI. Flowering Dynamics in Monoecious and Dioecious Hemp Genotypes. *Journal of Industrial Hemp* [interaktyvus]. 2008, **13**(1), 5–19 [žiūrėta 2019-04-10]. ISSN 1537-7881. Prieiga per: doi:10.1080/15377880801898691
- [183] BERTOLI, Alessandra, Sabrina TOZZI, Luisa PISTELLI ir Luciana G. ANGELINI. Fibre hemp inflorescences: From crop-residues to essential oil production. *Industrial Crops and Products* [interaktyvus]. 2010, **32**(3), 329–337 [žiūrėta 2019-04-10]. ISSN 0926-6690. Prieiga per: doi:10.1016/J.INDCROP.2010.05.012
- [184] MCGIMPSEY, Jennifer A., Malcolm H. DOUGLAS, John W. VAN KLINK, Daniel A. BEAUREGARD ir Nigel B. PERRY. Seasonal variation in essential oil yield and composition from naturalized *thymus vulgaris* L. in New Zealand. *Flavour and Fragrance Journal* [interaktyvus]. 1994, **9**(6), 347–352 [žiūrėta 2019-04-10]. ISSN 08825734. Prieiga per: doi:10.1002/ffj.2730090613
- [185] NISSEN, Lorenzo, Alessandro ZATTA, Ilaria STEFANINI, Silvia GRANDI, Barbara SGORBATI, Bruno BIAVATI ir Andrea MONTI. Characterization and antimicrobial activity of essential oils of industrial hemp varieties (*Cannabis sativa* L.). *Fitoterapia* [interaktyvus]. 2010, **81**(5), 413–419 [žiūrėta 2019-04-25]. ISSN 0367326X. Prieiga per: doi:10.1016/j.fitote.2009.11.010
- [186] NOVAK, Johannes, Karin ZITTERL-EGLESEER, Stanley G. DEANS ir Chlodwig M. FRANZ. Essential oils of different cultivars of *Cannabis sativa* L. and their antimicrobial activity. *Flavour and Fragrance Journal* [interaktyvus]. 2001, **16**(4), 259–262 [žiūrėta 2019-04-25]. ISSN 0882-5734. Prieiga per: doi:10.1002/ffj.993
- [187] TOGNOLINI, M., E. BAROCELLI, V. BALLABENI, R. BRUNI, A. BIANCHI, M. CHIAVARINI ir M. IMPICCIATORE. Comparative screening of plant essential oils: Phenylpropanoid moiety as basic core for antiplatelet activity. *Life Sciences* [interaktyvus]. 2006, **78**(13), 1419–1432 [žiūrėta 2019-04-25]. ISSN 00243205. Prieiga per: doi:10.1016/j.lfs.2005.07.020
- [188] CIURZYŃSKA, Agnieszka ir Andrzej LENART. Freeze-Drying - Application in Food Processing and Biotechnology - A Review. *Polish Journal of Food and Nutrition Sciences* [interaktyvus]. 2011, **61**(3), 165–171 [žiūrėta 2019-04-12]. ISSN 2083-6007. Prieiga per: doi:10.2478/v10222-011-0017-5
- [189] AAM, Elnour, Mohamed E S MIRGHANI, Musa KH, Kabbashi NA ir Alam MZ. Challenges of Extraction Techniques of Natural Antioxidants and Their Potential Application Opportunities as Anti-Cancer Agents. *Health Science Journal* [interaktyvus]. 2018, **12**(5) [žiūrėta 2019-04-28]. ISSN 1791809X. Prieiga per: doi:10.21767/1791-809X.1000596
- [190] GARRETT, Andrew R., Byron K. MURRAY, Richard A. ROBISON ir Kim L. O'NEILL. Measuring Antioxidant Capacity Using the ORAC and TOSC Assays. *Methods in molecular biology (Clifton, N.J.)* [interaktyvus]. 2010 [žiūrėta 2019-04-29], p. 251–262. ISSN 1940-6029. Prieiga per: doi:10.1007/978-1-60761-411-1_17
- [191] MARÍA JOSÉ DEL BAÑO, JUAN LORENTE, JULIÁN CASTILLO, OBDULIO

- BENAVENTE-GARCÍA, JOSÉ ANTONIO DEL RÍO, ANA ORTUÑO and KARL-WERNER QUIRIN ir Dieter GERARD. Phenolic Diterpenes, Flavones, and Rosmarinic Acid Distribution during the Development of Leaves, Flowers, Stems, and Roots of *Rosmarinus officinalis*. Antioxidant Activity [interaktyvus]. 2003 [žiūrėta 2019-05-02]. Prieiga per: doi:10.1021/JF0300745
- [192] CHEMAT, Farid, Maryline Abert VIAN ir Giancarlo CRAVOTTO. Green Extraction of Natural Products: Concept and Principles. *International Journal of Molecular Sciences* [interaktyvus]. 2012, **13**(7), 8615–8627 [žiūrėta 2019-04-29]. ISSN 1422-0067. Prieiga per: doi:10.3390/ijms13078615
- [193] Europos Parlamento ir Tarybos Reglamentas (ES) Nr. 1307/2013, kuriuo nustatomos pagal bendros žemės ūkio politikos paramos sistemas ūkininkams skiriamų tiesioginių išmokų taisyklės.
- [194] DE MEIJER, E. P. M. ir K. M. HAMMOND. The inheritance of chemical phenotype in *Cannabis sativa* L. (II): Cannabigerol predominant plants. *Euphytica* [interaktyvus]. 2005, **145**(1–2), 189–198 [žiūrėta 2019-05-02]. ISSN 0014-2336. Prieiga per: doi:10.1007/s10681-005-1164-8
- [195] Europos Parlamento ir Tarybos reglamentas (ES) 2015/2283 dėl naujų maisto produktų.
- [196] MECHTLER, Klemens, Josef BAILER ir Karl DE HUEBER. Variations of Δ^9 -THC content in single plants of hemp varieties. *Industrial Crops and Products* [interaktyvus]. 2004, **19**(1), 19–24 [žiūrėta 2019-05-02]. ISSN 09266690. Prieiga per: doi:10.1016/S0926-6690(03)00077-3
- [197] REVERCHON, Ernesto. Supercritical fluid extraction and fractionation of essential oils and related products. *The Journal of Supercritical Fluids* [interaktyvus]. 1997, **10**(1), 1–37 [žiūrėta 2019-05-07]. ISSN 0896-8446. Prieiga per: doi:10.1016/S0896-8446(97)00014-4
- [198] VICENTE, G., M. R. GARCÍA-RISCO, T. FORNARI ir G. REGLERO. Supercritical Fractionation of Rosemary Extracts to Improve the Antioxidant Activity. *Chemical Engineering & Technology* [interaktyvus]. 2012, **35**(1), 176–182 [žiūrėta 2019-05-15]. ISSN 09307516. Prieiga per: doi:10.1002/ceat.201100367
- [199] DA PORTO, Carla, Deborah DECORTI ir Andrea NATOLINO. Separation of aroma compounds from industrial hemp inflorescences (*Cannabis sativa* L.) by supercritical CO₂ extraction and on-line fractionation. *Industrial Crops and Products* [interaktyvus]. 2014, **58**, 99–103 [žiūrėta 2019-05-13]. ISSN 0926-6690. Prieiga per: doi:10.1016/J.INDCROP.2014.03.042
- [200] ROVETTO, Laura J. ir Niccolo V. AIETA. Supercritical carbon dioxide extraction of cannabinoids from *Cannabis sativa* L. *The Journal of Supercritical Fluids* [interaktyvus]. 2017, **129**, 16–27 [žiūrėta 2019-05-13]. ISSN 0896-8446. Prieiga per: doi:10.1016/J.SUPFLU.2017.03.014
- [201] KITRYTĖ, Vaida, Dovyda BAGDONAITĖ ir Petras RIMANTAS VENSKUTONIS. Biorefining of industrial hemp (*Cannabis sativa* L.) threshing residues into cannabinoid and antioxidant fractions by supercritical carbon dioxide, pressurized liquid and enzyme-assisted extractions. *Food Chemistry* [interaktyvus]. 2018, **267**, 420–429 [žiūrėta 2019-05-14]. ISSN 0308-8146. Prieiga per: doi:10.1016/J.FOODCHEM.2017.09.080
- [202] OMAR, Jone, Maitane OLIVARES, Mikel ALZAGA ir Nestor ETXEBARRIA. Optimisation and characterisation of marihuana extracts obtained by supercritical fluid extraction and focused ultrasound extraction and retention time locking GC-MS. *Journal of Separation Science* [interaktyvus]. 2013, **36**(8), 1397–1404 [žiūrėta 2019-05-07]. ISSN 16159306. Prieiga per: doi:10.1002/jssc.201201103

- [203] PALMA, M., L. T TAYLOR, R. M VARELA, S. J CUTLER ir H. G CUTLER. Fractional extraction of compounds from grape seeds by supercritical fluid extraction and analysis for antimicrobial and agrochemical activities. *Journal of agricultural and food chemistry*. 1999, **47**(12), 5044–8. ISSN 0021-8561.

Priedai

1 priedas. 2015 m. ES registruotos pluoštinių kanapių (*Cannabis sativa* L.) veislės [21]

Eil. nr	Veislės pavadinimas	Augintojai	Valstybė
1	Adzelvieši	LV 188	LV
2	Armanca	RO 1002	RO
3	Asso	IT 15	IT
4	Austa SK	LT 208, LV 202	LT, LV
5	Beniko	NL x, PL 1109	NL, PL
6	Bialobrzeskie	CZ 1067, PL 89	CZ
7	Białobrzeskie	PL 893	PL
8	Cannakomp	HU 149424	HU
9	Carma	IT 1532	IT
10	Carmagnola	IT 15	IT
11	Carmaleonte	IT 15	IT
12	Chamaeleon	NL 391	NL
13	Codimono	IT 15	IT
14	CS	IT 15	IT
15	Dacia Secuieni	RO 1018	RO
16	Delta-405	ES 275	ES
17	Delta-Ilosa	ES 275	ES
18	Denise	RO 1018	RO
19	Diana	RO 1018	RO
20	Dioica 88	FR 8194	FR
21	Earlina 8 FC	FR S14722	FR
22	Eletta Campana	IT 15	IT
23	Epsilon 68	FR 8194	FR
24	Fedora 17	FR 8194	FR
25	Felina 32	FR 8194	FR
26	Férimon	FR 8194	FR
27	Ferimon	FR 8194	FR
28	Fibranova	IT 15	IT
29	Fibrante	IT 15	IT
30	Fibrol	HU 149424	HU
31	Fibror 79	FR S8194	FR
32	Finola	FI 6157	FI
33	Futura 75	FR 8194	FR
34	Glecia	IT 1324	IT
35	Gliana	IT 1324	IT
36	Glyana	PL x	PL
37	Henola	PL 893	PL
38	Ivory	NL 722	NL
39	KC Bonusz	HU 149424	HU
40	KC Dora	HU 149424	HU
41	KC Virtus	HU 149424	HU
42	KC Zuzana	HU 149424	HU
43	KCA Borana	HU 149424	HU
44	Kompolti hibrid TC	HU 149424	HU
45	Kompolti	HU 151322, NL x	HU, NL

1 priedo tęsinys

46	Lipko	HU 151322	HU
47	Lovrin 110	RO 1002	RO
48	Marcello	NL 722	NL
49	Markant	NL 722	NL
50	Monoica	CZ 1272, HU 149424	CZ, HU
51	Rajan	PL 893	PL
52	Ratza	RO 1018	RO
53	Santhica 23	FR 8194	FR
54	Santhica 27	FR 8194	FR
55	Santhica 70	FR 8194	FR
56	Secuieni Jubileu	RO 1018	RO
57	Silvana	RO 1002	RO
58	Succesiv	RO 1018	RO
59	Szarvasi	HU 108887	108887
60	Tiborszallasi	HU 149424	HU
61	Tisza	HU 149424	HU
62	Tygra	PL 893	PL
63	Uniko B	HU 151322	HU
64	Uso-31	NL x	NL
65	Villanova	IT 1495	IT
66	Wielkopolskie	PL 589	PL
67	Wojko	PL 893	PL
68	Zenit	RO 1018	RO

2 priedas. 2018 m. Kanadoje registruotos pluoštinių kanapių (*Cannabis sativa* L.) veislės [25]

Eil. nr	Veislės pavadinimas	Valstybė
1	Altair	CA
2	Alyssa	CA
3	Angie	CA
4	Anka	CA
5	CFX-1	CA
6	CFX-2	CA
7	CRS-1	CA
8	CS	IT
9	CanMa	CA
10	Canda	CA
11	Carmagnola	IT
12	Carmen	CA
13	Crag	CA
14	Delores	CA
15	Deni	CA
16	ESTA-1	CA
17	Finola	CA (FI)
18	Fasamo	DE
19	Fedrina 74	FR
20	Felina 34	FR
21	Ferimon	FR
22	Fibranova	IT
23	Fibriko	HU
24	Fibrimon 24	FR
25	Fibrimon 56	FR
26	Georgina	CA
27	GranMa	CA
28	Grandi	CA
29	Joey	CA
30	Judy	CA
31	Jutta	CA
32	Katani	CA
33	Kompolti	HU
34	Kompolti Hibrid TC	HU
35	Kompolti Sargaszaru	HU
36	Laura Secord	CA
37	Lovrin 110	RO
38	Martha	CA
39	Petera	CA
40	Piccolo	CA
41	Quida	CA
42	Silesia	CA
43	UC-RGM	CA
44	USO 14	CA (UA)
45	USO 31	CA (UA)
46	Uniko B	HU
47	Victoria	CA

2 priedo tęsinys

48	X-59 (Hemp Nut)	CA
49	Yvonne	CA
50	Zolotonosha 11	CA (UA)
51	Zolotonosha 15	CA (UA)

3 priedas. Skirtingų kanapių veislių detali lakiųjų aromato komponentų cheminė sudėtis, %

Junginys ^b	KI ^a	Veislė										
		CFX-1	CFX-2	CRS-1	Regina	Katani	Adzelvieši	Finola	Piccolo	Grandi	Sidrabi	Pūrini
2-Heksanolis	802	0,37±0,01	0,26±0,00	0,26±0,00	0,25±0,00	0,30±0,01	0,26±0,00	0,30±0,00	0,29±0,00	0,27±0,00	0,27±0,00	0,26±0,00
Nonanas	902	0,05±0,00	–	0,03±0,00	0,03±0,00	0,04±0,00	–	–	0,04±0,00	–	–	0,03±0,00
2-Heptanonas	908	–	0,04±0,00	0,04±0,00	0,02±0,01	0,03±0,00	0,03±0,00	–	–	0,04±0,00	0,04±0,00	–
Heptanalis	910	–	–	–	–	–	–	0,04±0,00	–	–	0,05±0,00	–
Triciklenas	927	0,04±0,00	0,07±0,00	0,11±0,00	0,04±0,00	0,10±0,00	–	0,15±0,00	–	0,11±0,00	0,18±0,00	–
α-Tujenas	935	0,04±0,00	0,04±0,00	0,07±0,00	0,04±0,00	0,07±0,00	–	0,05±0,00	–	0,07±0,00	0,07±0,00	–
α-Pinenas	942	3,19±0,03	3,70±0,03	4,54±0,04	5,65±0,02	4,46±0,05	0,06±0,00	4,71±0,08	–	5,08±0,03	6,08±0,04	0,03±0,00
Kamfenas	957	0,06±0,00	0,07±0,00	0,07±0,00	0,09±0,01	0,08±0,00	–	0,09±0,00	–	0,09±0,01	0,11±0,01	–
Heksanoinė rūgštis	967	0,22±0,00	0,16±0,00	0,15±0,00	0,15±0,00	0,17±0,00	0,16±0,00	0,18±0,00	0,08±0,01	0,15±0,00	0,15±0,00	0,16±0,00
Sabinenas	974	0,26±0,00	0,19±0,00	0,18±0,00	0,17±0,00	0,21±0,00	0,19±0,00	0,21±0,00	0,19±0,00	0,18±0,00	0,18±0,00	0,19±0,00
2-Pentilfuranas	980	0,08±0,00	–	0,12±0,00	0,07±0,00	0,12±0,00	–	0,11±0,00	0,22±0,01	0,12±0,00	0,12±0,00	–
β-Pinenas	984	1,52±0,01	1,73±0,02	2,04±0,02	1,84±0,01	1,87±0,02	0,08±0,00	2,02±0,04	0,03±0,00	2,16±0,01	2,31±0,01	0,04±0,00
Mircenas	996	2,23±0,02	2,98±0,03	4,34±0,04	1,60±0,01	2,88±0,03	0,32±0,01	2,73±0,05	0,16±0,01	3,96±0,03	5,72±0,03	0,28±0,00
α-Felandrenas	1012	–	0,03±0,00	0,03±0,00	0,04±0,01	0,04±0,00	–	0,02±0,00	–	0,03±0,00	0,04±0,00	–
Δ-3-Karenas	1018	0,08±0,00	0,10±0,00	0,11±0,00	0,09±0,00	0,14±0,00	–	0,12±0,00	–	0,15±0,00	0,15±0,00	–
α-Terpinenas	1024	0,04±0,00	0,05±0,00	0,06±0,00	0,05±0,01	0,05±0,00	–	0,04±0,00	–	0,05±0,01	0,04±0,00	–
p-Cimenas	1033	0,07±0,00	0,09±0,00	0,09±0,00	0,06±0,01	0,08±0,01	–	0,11±0,01	–	0,10±0,01	0,09±0,00	–
Limonenas	1037	0,94±0,00	1,07±0,01	1,19±0,01	0,60±0,00	1,12±0,01	0,13±0,00	0,92±0,02	0,09±0,00	1,22±0,01	0,83±0,01	0,10±0,00
β-Felandrenas	1039	0,09±0,00	0,17±0,00	0,40±0,00	0,06±0,00	0,15±0,00	0,06±0,00	0,18±0,00	–	0,15±0,00	0,13±0,00	0,02±0,00
1,8-Cineolis	1045	0,10±0,00	0,12±0,00	0,21±0,00	0,10±0,00	0,15±0,00	0,03±0,00	0,17±0,00	–	0,18±0,00	0,21±0,00	0,02±0,00
E-β-Ocimenas	1055	0,55±0,01	0,57±0,01	1,01±0,01	0,58±0,01	0,76±0,02	0,22±0,01	0,71±0,02	0,14±0,01	1,08±0,01	0,95±0,01	0,13±0,00
γ-Terpinenas	1067	0,08±0,00	0,08±0,00	0,12±0,00	0,06±0,00	0,10±0,00	0,04±0,00	0,10±0,00	–	0,10±0,00	0,09±0,00	–
Z-Sabineno hidratas	1075	0,05±0,00	0,09±0,00	0,13±0,00	0,05±0,00	0,08±0,01	0,08±0,00	0,08±0,00	–	0,07±0,00	0,06±0,00	0,04±0,00
Terpinolenas	1095	1,05±0,00	1,08±0,01	1,10±0,02	1,30±0,01	1,19±0,02	0,56±0,01	0,83±0,02	0,31±0,00	1,38±0,01	1,42±0,01	0,14±0,00
p-Cimenenas	1098	0,05±0,00	0,04±0,00	0,04±0,01	0,04±0,00	0,03±0,00	–	0,03±0,00	–	0,04±0,00	0,04±0,00	–
Linalolis	1107	0,05±0,01	0,11±0,00	0,14±0,01	0,05±0,01	0,09±0,00	0,09±0,00	0,10±0,00	0,03±0,00	0,09±0,00	0,09±0,00	0,04±0,00
Nonanalis	1109	–	–	–	–	–	–	0,11±0,01	0,07±0,01	–	0,17±0,00	–
E-Sabineno hidratas	1111	–	0,10±0,01	0,04±0,01	0,06±0,01	0,11±0,00	0,03±0,00	–	–	0,11±0,01	–	0,03±0,01
α-Fencholis	1124	0,06±0,00	0,03±0,00	0,03±0,00	–	0,05±0,00	0,03±0,00	0,04±0,00	0,03±0,00	0,04±0,00	0,03±0,00	–
E-Pineno hidratas	1133	0,09±0,00	0,12±0,00	0,08±0,00	0,06±0,00	0,10±0,00	0,06±0,00	0,10±0,00	0,05±0,00	0,09±0,00	0,07±0,00	–

3 priedo tęsinys

Z-Limoneno oksidas	1144	–	–	0,02±0,00	–	–	–	–	–	0,02±0,00	0,03±0,00	–
Z-p-Menta-2,8-dien-1-olis	1147	0,07±0,00	0,07±0,00	0,06±0,00	0,04±0,00	–	0,07±0,00	0,05±0,00	–	0,05±0,00	0,05±0,00	–
Z-Pineno hidratas	1151	–	–	0,03±0,01	–	0,04±0,00	–	0,03±0,00	–	0,04±0,01	0,04±0,00	–
Ipsdienolis	1155	0,07±0,00	0,12±0,00	0,09±0,01	0,06±0,00	0,11±0,01	0,09±0,00	0,11±0,00	0,06±0,01	0,14±0,00	0,11±0,00	0,05±0,00
Pinokarvonas	1168	–	0,03±0,00	–	0,02±0,00	0,03±0,00	0,03±0,00	0,05±0,00	–	0,04±0,00	0,06±0,01	0,04±0,00
Borneolis	1175	–	0,02±0,00	–	–	–	–	–	–	–	0,02±0,00	–
Terpinen-4-olis	1186	0,14±0,01	0,31±0,00	0,20±0,00	0,11±0,00	0,29±0,01	0,29±0,00	0,35±0,01	0,15±0,00	0,33±0,00	0,35±0,00	0,21±0,00
p-Cimen-8-olis	1195	0,04±0,00	0,10±0,00	0,06±0,00	0,04±0,00	0,05±0,00	0,07±0,00	0,09±0,00	0,04±0,00	0,08±0,01	0,09±0,00	0,04±0,00
Dodekanas	1200	–	0,03±0,00	–	–	–	–	0,02±0,00	–	–	–	–
α-Terpineolis	1202	0,06 ±0,01	0,07±0,00	0,06±0,01	–	–	0,03±0,00	0,05±0,02	–	0,02±0,00	0,02±0,00	–
Tridekanas	1300	–	–	–	–	–	–	–	0,03±0,00	0,02±0,00	–	–
α-Kubebenas	1357	–	–	–	–	0,03±0,00	–	–	–	0,03±0,00	–	–
α-Ilangenas	1381	0,04±0,00	0,04±0,00	0,03±0,00	0,02±0,00	0,05±0,00	–	0,04±0,00	0,06±0,00	0,06±0,00	0,03±0,00	–
α-Kopaenas	1385	0,04±0,00	0,04±0,01	–	–	0,07±0,01	–	0,07±0,00	0,06±0,00	0,09±0,00	–	–
7-epi-Seskvitujenas	1398	–	0,03±0,00	–	0,03±0,00	0,04±0,00	0,03±0,00	0,02±0,00	0,04±0,01	0,02±0,00	0,04±0,00	0,05±0,00
Z-Kariofilenas	1415	0,10±0,00	0,08±0,00	0,06±0,00	0,07±0,00	0,12±0,00	0,12±0,00	0,11±0,00	0,15±0,00	0,11±0,00	0,12±0,00	0,15±0,00
α-Z-Bergamotenas	1418	0,46 ±0,01	0,49±0,01	0,56±0,00	0,47±0,00	0,52±0,01	0,51±0,01	0,48±0,01	0,57±0,01	0,53±0,01	0,58±0,00	0,50±0,01
α-Santalenas	1426	0,31±0,01	0,32±0,00	0,24±0,00	0,26±0,01	0,39±0,00	0,39±0,01	0,35±0,01	0,49±0,01	0,39±0,00	0,43±0,00	0,49±0,01
E-Kariofilenas	1435	31,46±0,11	26,28±0,22	29,55±0,16	29,27±0,19	28,74±0,20	32,71±0,05	21,94±0,29	33,02±0,14	28,98±0,17	30,52±0,11	33,20±0,55
β-Gurjunenas	1442	0,05±0,02	0,04±0,00	–	–	0,05±0,00	–	0,04±0,00	–	0,04±0,00	0,03±0,00	0,10±0,00
α-E-Bergamotenas	1446	2,00±0,01	1,93±0,02	1,52±0,01	1,82±0,01	2,17±0,03	2,11±0,01	1,73±0,02	2,84±0,02	2,12±0,01	2,71±0,01	2,85±0,05
γ-Elementas	1450	0,28±0,00	0,30±0,00	0,06±0,01	0,08±0,00	0,24±0,010	0,35±0,00	0,31±0,00	0,47±0,02	0,31±0,00	0,37±0,00	–
α-Guajenas	1453	0,14±0,00	0,13±0,00	0,12±0,02	0,10±0,01	0,16±0,02	0,12±0,00	0,13±0,01	0,16±0,02	0,17±0,01	0,13±0,00	0,12±0,00
Aromadendrenas	1456	0,05±0,00	0,05±0,00	0,04±0,00	0,05±0,01	0,06±0,01	0,05±0,00	0,05±0,00	0,05±0,02	0,05±0,01	0,05±0,00	0,14±0,00
Z-β-Farnesenas	1460	0,03±0,00	0,03±0,00	0,02±0,00	0,03±0,01	0,04±0,01	0,04±0,00	0,04±0,01	0,05±0,01	0,04±0,01	0,04±0,01	0,05±0,00
E-β-Farnesenas	1465	1,89±0,01	2,39±0,04	2,00±0,01	2,21±0,03	2,91±0,03	3,04±0,07	2,28±0,03	3,60±0,01	2,80±0,01	3,33±0,02	3,57±0,06
α-Humulenas	1468	9,13±0,03	7,84±0,06	8,58±0,05	7,68±0,06	8,03±0,07	9,48±0,04	6,38±0,07	9,63±0,03	8,19±0,07	8,34±0,02	9,96±0,17
Allo-Aromadendrenas	1476	0,46±0,01	0,63±0,00	0,62±0,00	0,50±0,03	0,53±0,03	0,47±0,00	0,40±0,02	0,48±0,02	0,52±0,03	0,34±0,03	–
β-Santalenas	1474	–	–	–	0,02±0,00	0,03±0,00	0,17±0,00	0,03±0,00	0,03±0,00	0,02±0,00	0,03±0,00	0,41±0,01
Seskvisabinenas	1482	0,08±0,00	–	0,11±0,00	0,11±0,01	0,10±0,01	–	0,11±0,01	0,10±0,00	0,03±0,00	0,03±0,00	0,03±0,00
γ-Gurjunenas	1487	0,24±0,00	0,37±0,01	0,24±0,01	0,25±0,01	0,47±0,14	0,50±0,00	0,40±0,10	0,32±0,01	0,59±0,01	0,32±0,01	0,11±0,00

3 priedo tęsinys

α -Kurkumenas	1489		0,09±0,00		0,11±0,00	–	0,14±0,01	–	–	–	–	–
γ -Murolenas	1491	–	–	0,11±0,01	0,08±0,00	0,10±0,04	0,14±0,01	0,07±0,00	0,09±0,00	0,15±0,00	0,14±0,01	0,19±0,01
4,5-di-epi-Aristolochenas	1492	–	0,11±0,00	–	–	–	–	–	–	0,09±0,01	0,12±0,00	0,09±0,00
α -Amorfenas	1493	0,06±0,00	0,13±0,00	0,07±0,00	–	0,57±0,08	–	0,17±0,01	0,67±0,00	–	–	–
α -Zingiberenas	1498	0,66±0,01	–	–	–	–	–	–	–	0,60±0,00	0,60±0,02	–
β -Selinenas	1500	2,83±0,02	4,03±0,08	4,03±0,02	3,88±0,02	3,70±0,15	4,44±0,02	3,57±0,13	4,09±0,02	3,53±0,03	2,69±0,06	3,88±0,07
α -Selinenas	1508	2,06±0,01	2,41±0,04	2,34±0,01	2,26±0,01	2,25±0,07	2,66±0,02	2,11±0,10	2,41±0,01	2,15±0,02	1,94±0,05	2,32±0,04
α -Murolenas	1511	0,03±0,00	0,03±0,00	–	0,17±0,00	0,04±0,01	–	0,03±0,01	–	0,06±0,00	0,19±0,00	0,18±0,01
α -E,E-Farnesenas	1515	0,24±0,01	0,26±0,01	0,26±0,00	0,71±0,00	0,69±0,00	0,17±0,01	0,20±0,01	0,33±0,00	0,76±0,01	0,71±0,01	0,47±0,01
β -Bisabolenas	1518	0,79±0,01	–	0,28±0,00	–	0,25±0,00	0,86±0,03	–	1,15±0,02	0,24±0,00	–	–
γ -Kadinenas	1523	0,20±0,00	0,76±0,00	0,17±0,00	0,19±0,00	0,23±0,00	0,25±0,01	0,71±0,02	0,28±0,01	0,21±0,00	0,23±0,00	0,30±0,00
α -Bulnesenas	1528	0,14±0,02	–	–	0,04±0,00	0,03±0,00	–	0,21±0,01	–	–	–	–
Seskvicineolis	1534	0,24±0,01	0,19±0,00	0,03±0,00	0,03±0,00	0,15±0,02	0,10±0,00	0,06±0,02	0,33±0,00	0,05±0,00	0,04±0,00	0,12±0,00
7-epi- α -Selinenas	1536	0,24±0,01	0,06±0,01	0,06±0,02	–	–	0,07±0,00	0,08±0,01	0,21±0,01	0,37±0,03	0,03±0,00	0,06±0,00
β -Seskvifelandrenas	1537	0,29±0,01	0,54±0,02	0,23±0,01	0,16±0,01	0,19±0,03	0,06±0,01	0,60±0,02	0,54±0,03	0,64±0,01	0,66±0,00	0,08±0,01
Δ -Kadinenas	1540	0,23±0,00	0,36±0,00	0,37±0,01	0,46±0,01	0,51±0,01	0,84±0,03	0,24±0,00	0,28±0,02	0,32±0,00	0,35±0,00	0,78±0,01
Z-Seskvisabineno hidratas	1554	0,70±0,01	0,15±0,00	0,30±0,01	1,23±0,01	0,43±0,00	0,37±0,00	0,05±0,01	0,45±0,00	0,31±0,00	0,02±0,00	0,19±0,01
Selina-3,7(11)-dianas	1557	0,71±0,01	0,41±0,00	0,27±0,02	0,20±0,00	0,46±0,01	0,38±0,02	0,17±0,04	0,50±0,01	0,38±0,00	0,34±0,08	0,73±0,01
β -Germakrenas	1570	0,12±0,00	0,13±0,00	0,13±0,00	0,13±0,00	0,11±0,00	0,14±0,00	0,17±0,00	0,14±0,00	0,11±0,00	0,12±0,00	0,13±0,00
E-Nerolidolis	1575	0,77±0,01	0,98±0,01	0,69±0,00	0,72±0,01	0,81±0,01	0,84±0,01	1,17±0,05	1,23±0,02	0,71±0,01	0,70±0,02	0,79±0,04
Longipinanolis	1587	0,11±0,01	0,09±0,00	0,06±0,00	0,05±0,00	0,08±0,01	0,07±0,01	0,09±0,01	0,05±0,01	0,06±0,00	0,06±0,00	0,09±0,00
E-Seskvisabineno hidratas	1593	0,09±0,01	0,14±0,00	0,07±0,00	0,06±0,01	0,07±0,01	0,04±0,01	0,05±0,01	0,17±0,02	0,06±0,00	0,12±0,01	0,24±0,02
Kariofileno oksidas	1600	13,16±0,03	15,04±0,07	13,53±0,14	9,83±0,10	13,21±0,18	15,32±0,17	17,48±0,39	15,01±0,04	12,87±0,12	11,28±0,07	14,65±0,16
Guajolis	1614	0,03±0,00	–	0,03±0,01	2,99±0,04	0,41±0,01	0,06±0,00	–	0,06±0,02	–	0,06±0,00	0,09±0,00
Ledolis	1618	0,33±0,00	0,10±0,01	0,34±0,01	0,39±0,06	0,13±0,01	0,42±0,02	0,08±0,00	0,48±0,02	0,06±0,00	0,03±0,00	0,10±0,01
Humuleno epoksididas II	1630	3,54±0,01	4,04±0,05	3,37±0,04	2,22±0,05	3,28±0,02	3,88±0,06	4,30±0,12	3,73±0,02	3,19±0,02	2,70±0,05	4,32±0,07
10-epi- γ -Eudesmolis	1639	0,52±0,01	0,46±0,07	0,37±0,01	2,57±0,03	0,58±0,03	0,48±0,06	0,54±0,05	0,66±0,02	0,46±0,02	0,35±0,04	0,62±0,03
γ -Eudesmolis	1652	0,87±0,04	0,11±0,01	0,83±0,01	0,76±0,04	1,06±0,01	1,12±0,04	0,40±0,01	1,26±0,01	0,98±0,03	0,90±0,02	0,22±0,01

3 priedo tęsinys

Kariofila-4(12),8(13)-dien-5β-olis	1656	0,81±0,05	0,99±0,03	0,57±0,00	0,60±0,02	0,73±0,05	0,96±0,04	1,40±0,10	0,10±0,01	0,74±0,05	0,82±0,02	1,51±0,04
β-Eudesmolis	1673	0,21±0,01	0,39±0,02	0,18±0,01	1,71±0,03	0,40±0,01	0,70±0,02	0,11±0,01	0,59±0,02	0,05±0,01	0,07±0,01	0,05±0,00
α-Eudesmolis	1675	0,18±0,01	–	0,21±0,00	–	0,18±0,03	0,39±0,03	0,05±0,00	0,57±0,01	–	–	0,17±0,00
Neo-Intermedeolis	1678	0,33±0,01	0,28±0,02	0,22±0,01	0,30±0,03	0,04±0,02	0,31±0,01	0,66±0,03	0,20±0,00	0,24±0,01	0,35±0,01	0,40±0,09
14-hydroxy-Z-Kariofilenas	1683	0,16±0,00	0,40±0,02	0,19±0,00	0,20±0,01	0,04±0,00	0,03±0,06	0,60±0,05	0,07±0,00	0,13±0,00	0,43±0,00	0,59±0,02
β-Bisabololis	1691	1,91±0,06	2,19±0,07	1,75±0,05	1,06±0,01	1,63±0,04	0,08±0,00	2,36±0,07	1,74±0,04	1,56±0,06	1,17±0,02	2,41±0,06
α-Bisabololis	1698	0,61±0,01	0,86±0,05	0,03±0,01	1,56±0,01	0,48±0,01	1,95±0,09	0,83±0,05	0,53±0,01	0,38±0,01	0,52±0,01	0,64±0,01
Z-α-trans-Bergamotolis	1701	0,04±0,00	0,03±0,00	0,08±0,00	0,10±0,01	0,03±0,00	0,16±0,01	0,07±0,01	0,10±0,00	0,03±0,00	0,04±0,00	0,11±0,01
2-Pentadekanonas	1705	0,03±0,00	–	–	–	–	0,03±0,00	0,02±0,00	0,03±0,01	–	–	0,03±0,01
Eudesm-7(11)-en-4-olis	1716	0,19±0,00	0,11±0,00	0,11±0,00	0,08±0,00	0,13±0,00	0,11±0,00	0,08±0,00	0,14±0,01	0,09±0,00	0,05±0,00	0,04±0,00
Metilheksadekanoatas	1934	0,07±0,01	0,03±0,00	0,05±0,00	0,06±0,01	0,10±0,01	0,03±0,01	0,03±0,00	0,10±0,01	0,03±0,00	0,02±0,01	0,03±0,00
Metillinoleatas	2103	0,12±0,00	0,19±0,01	0,05±0,00	0,22±0,01	0,26±0,01	0,28±0,01	0,50±0,05	0,16±0,01	0,17±0,01	0,09±0,01	0,19±0,02
Metillinolenatas	2114	0,05±0,00	0,07±0,01	–	0,09±0,01	0,09±0,01	0,03±0,00	0,19±0,03	0,06±0,00	0,06±0,01	0,03±0,01	0,07±0,01
Fitolis	2125	0,19±0,01	0,02±0,00	0,05±0,00	0,06±0,01	0,06±0,01	0,12±0,01	0,04±0,01	0,11±0,01	0,03±0,00	–	0,05±0,01
Trikozanas	2300	0,04±0,00	0,03±0,00	0,02±0,00	–	0,03±0,00	–	0,04±0,00	–	0,02±0,00	0,04±0,00	0,07±0,01
CBD	2462	4,72±0,09	4,20±0,09	5,17±0,19	2,49±0,03	3,35±0,04	4,30±0,10	4,25±0,13	2,70±0,03	2,33±0,05	1,60±0,05	3,80±0,12
CBC	2467	0,10±0,01	0,10±0,01	0,07±0,00	0,05±0,00	–	0,04±0,00	0,10±0,01	0,03±0,01	0,06±0,01	0,03±0,00	0,13±0,01
CBL	2469	0,03±0,00	0,04±0,00	0,04±0,00	0,02±0,00	–	0,03±0,00	0,04±0,00	–	0,02±0,00	–	–
Pentakozanas	2500	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	0,03±0,01
Δ ⁸ -THC	2516	0,07±0,00	0,02±0,00	0,04±0,00	–	–	0,02±0,00	–	–	–	–	–
Δ ⁹ -THC	2561	0,06±0,01	0,08±0,00	0,08±0,00	0,02±0,01	0,21±0,01	0,02±0,00	0,14±0,02	0,12±0,01	0,12±0,01	–	0,02±0,00
Heksakozanas	2600	–	–	–	–	–	–	–	0,03±0,00	–	–	–
CBN	2634	–	–	–	–	–	–	0,03±0,01	–	0,03±0,00	–	–
Heptakozanas	2700	0,04±0,00	0,02±0,00	0,02±0,00	–	0,03±0,00	0,03±0,00	0,03±0,00	–	0,02±0,00	0,02±0,00	–
Nonakozanas	2900	0,07±0,00	0,06±0,00	0,05±0,00	0,06±0,00	0,08±0,00	0,08±0,00	0,08±0,02	0,08±0,01	0,06±0,00	0,04±0,00	0,07±0,01

^aKováts sulaikymo indeksas apskaičiuotas pagal C₇-C₃₀ standartinį alkanų mišinį nepolinėje Elite-5 kolonėje; ^bIdentifikuota pagal GC-TOF/MS spektrus ir Kováts sulaikymo indeksą

4 priedas. 'Finola' skirtingo vegetacijos periodo detali lakiųjų aromato komponentų cheminė sudėtis, %

Junginys ^b	KI ^a	Vegetacijos periodas									
		Prieš žydėjimą		Žydėjimo metu				Po žydėjimo (Estija)		Po žydėjimo (Lietuva)	
		Švieži lapai	Džiovinti lapai	Švieži lapai	Džiovinti lapai	Švieži žiedai	Džiovinti žiedai	Švieži lapai	Džiovinti lapai	Švieži lapai	Džiovinti lapai
2-Heksanolis	802	0,28±0,01	0,30±0,01	0,34±0,03	0,02±0,00	–	–	–	–	–	–
Nonanas	902	0,03±0,01	0,04±0,00	0,04±0,00	0,04±0,00	0,04±0,00	0,02±0,00	–	–	–	–
Triciklenas	927	–	–	–	–	–	–	–	–	0,03±0,00	0,03±0,01
α-Tujenas	935	–	–	–	–	–	–	0,04±0,00	0,02±0,00	0,05±0,00	0,04±0,00
α-Pinenas	942	1,88±0,04	2,87±0,02	0,78±0,08	1,37±0,02	3,06±0,06	11,63±0,15	7,51±0,17	1,19±0,01	10,37±0,26	3,95±0,03
Kamfenas	957	0,08±0,00	0,02±0,00	0,02±0,00	0,05±0,00	0,11±0,00	0,07±0,00	0,06±0,00	0,14±0,00	0,07±0,01	0,06±0,00
Heksanoinė rūgštis	967	0,18±0,01	0,08±0,00	0,09±0,01	0,13±0,00	0,25±0,01	0,16±0,00	0,14±0,00	0,10±0,00	0,15±0,01	0,14±0,00
Sabinenas	974	0,21±0,01	0,21±0,00	0,25±0,03	0,15±0,00	0,30±0,01	0,19±0,00	0,17±0,01	0,16±0,00	0,18±0,01	0,17±0,00
2-Pentilfuranas	980	–	–	–	–	–	–	0,04±0,00	0,04±0,00	0,06±0,00	0,08±0,00
β-Pinenas	984	0,96±0,03	1,26±0,00	0,47±0,05	0,65±0,01	1,52±0,06	4,22±0,05	2,56±0,10	0,55±0,00	3,89±0,09	1,78±0,01
Mircenas	996	0,79±0,02	1,35±0,01	0,94±0,09	1,40±0,02	9,66±0,33	16,25±0,21	5,07±0,11	0,88±0,01	7,58±0,18	1,94±0,01
α-Felandrenas	1012	–	–	–	–	–	–	0,09±0,01	0,05±0,00	0,16±0,01	0,04±0,00
Δ-3-Karenas	1018	–	–	–	–	–	–	0,09±0,00	0,06±0,00	0,15±0,01	0,04±0,00
α-Terpinenas	1024	–	–	–	–	–	–	0,09±0,00	0,04±0,01	0,13±0,01	0,05±0,00
p-Cimenas	1033	–	–	–	–	–	–	0,02±0,00	–	0,06±0,00	0,02±0,00
Limonenas	1037	0,71±0,02	0,84±0,01	0,57±0,06	0,64±0,01	1,48±0,06	2,23±0,03	2,48±0,10	0,77±0,01	5,28±0,13	1,75±0,01
β-Felandrenas	1039	0,19±0,01	0,21±0,00	0,07±0,01	0,14±0,00	0,24±0,01	0,21±0,00	0,32±0,01	0,16±0,00	0,19±0,01	0,19±0,00
1,8-Cineolis	1045	0,13±0,00	0,30±0,00	0,33±0,03	0,43±0,01	0,09±0,00	0,16±0,00	0,29±0,01	0,07±0,00	0,37±0,02	0,25±0,00
E-β-Ocimenas	1055	0,82±0,01	1,46±0,02	1,21±0,04	1,67±0,03	1,34±0,05	1,75±0,03	6,45±0,23	0,93±0,01	5,13±0,11	2,26±0,02
γ-Terpinenas	1067	–	0,03±0,00	–	0,02±0,00	0,03±0,00	0,05±0,00	0,09±0,00	0,03±0,00	0,11±0,01	0,07±0,00
Z-Sabineno hidratas	1075	0,06±0,00	0,09±0,00	–	0,04±0,00	0,04±0,00	0,04±0,00	0,08±0,00	0,06±0,00	0,09±0,01	0,11±0,00
Terpinolenas	1095	0,03±0,00	0,06±0,00	0,02±0,00	0,03±0,00	0,39±0,02	0,40±0,00	3,63±0,13	0,47±0,00	5,47±0,28	1,75±0,01
p-Cimenenas	1098	0,03±0,00	0,06±0,00	–	0,04±0,00	–	0,02±0,00	0,07±0,00	0,05±0,00	0,06±0,00	–
Linalolis	1107	0,03±0,00	0,03±0,00	0,10±0,01	0,03±0,00	0,17±0,00	0,09±0,01	0,05±0,00	0,03±0,00	0,04±0,00	0,04±0,01
Nonanalis	1109	–	–	–	–	–	–	0,04±0,00	0,03±0,00	0,07±0,00	0,06±0,00
α-Fencholis	1124	–	–	–	–	–	–	0,04±0,00	0,03±0,00	0,07±0,00	0,06±0,00
E-Pineno hidratas	1133	–	0,04±0,00	0,03±0,00	0,06±0,00	–	–	0,03±0,00	–	0,04±0,00	0,03±0,00
Z-p-Menta-2,8-dien-1-olis	1147	–	–	–	–	–	–	–	–	0,03±0,00	0,02±0,00
Z-Pineno hidratas	1151	–	–	–	–	–	–	–	–	0,03±0,00	0,02±0,00
Ipsdienolis	1155	–	–	–	–	0,05±0,00	0,03±0,01	0,03±0,00	–	0,07±0,00	0,04±0,00

4 priedo tęsinys

Pinokarvonas	1168	–	0,04±0,00	0,03±0,00	0,03±0,00	0,04±0,00	0,07±0,00	0,04±0,00	0,03±0,00	0,10±0,00	0,08±0,00
Borneolis	1175	0,03±0,00	–	–	–	–	–	0,02±0,00	–	0,05±0,00	0,06±0,00
Terpinen-4-olis	1186	–	–	–	–	0,07±0,00	0,02±0,00	0,15±0,00	0,03±0,00	0,17±0,00	0,11±0,00
p-Cimen-8-olis	1195	–	–	–	–	–	–	0,03±0,00	–	0,08±0,00	0,02±0,00
α-Terpineolis	1202	0,02±0,00	–	–	0,03±0,00	–	0,04±0,00	0,06±0,00	–	0,04±0,00	0,03±0,00
Safranalis	1213	0,02±0,00	0,07±0,01	0,03±0,00	0,08±0,01	–	–	–	–	0,02±0,00	0,03±0,00
β-Ciklocitralis	1235	–	0,04±0,00	0,04±0,00	0,06±0,00	–	–	–	–	–	–
α-Kubebenas	1357	–	0,17±0,00	–	0,29±0,00	–	–	–	0,02±0,00	0,04±0,00	0,07±0,00
α-Ilangenas	1381	–	0,03±0,00	–	0,03±0,00	–	0,03±0,00	–	0,03±0,00	–	0,03±0,00
α-Kopaenas	1385	0,02±0,00	0,05±0,00	0,03±0,00	0,06±0,00	–	0,03±0,00	–	0,07±0,00	–	0,07±0,00
β-Burbobenas	1397	–	–	0,07±0,01	0,05±0,00	0,03±0,00	–	–	–	–	–
7-epi-Seskvitujenas	1398	–	0,06±0,02	–	0,10±0,00	–	–	0,07±0,00	0,13±0,00	0,02±0,00	0,03±0,00
β-Elementas	1400	0,03±0,00	0,02±0,00	0,06±0,00	0,07±0,00	0,04±0,00	0,04±0,00	–	–	–	–
Z-Kariofilenas	1415	0,09±0,00	0,17±0,00	0,15±0,02	0,22±0,01	0,08±0,00	0,11±0,00	0,08±0,00	0,20±0,00	0,07±0,00	0,16±0,01
α-Z-Bergamotenas	1418	0,27±0,01	0,67±0,00	0,58±0,02	0,93±0,01	0,20±0,01	0,52±0,01	0,24±0,00	0,38±0,00	0,29±0,01	0,53±0,02
α-Santalenas	1426	0,26±0,01	0,45±0,01	0,41±0,04	0,54±0,01	0,22±0,01	0,30±0,00	0,27±0,01	0,51±0,01	0,21±0,00	0,41±0,02
E-Kariofilenas	1435	22,02±0,98	31,74±0,42	19,30±0,56	31,70±0,83	17,73±0,48	23,92±0,08	30,09±1,10	44,55±0,26	21,26±0,31	36,63±0,19
β-Gurjunenas	1442	0,04±0,01	0,10±0,00	0,10±0,01	0,10±0,00	–	–	0,02±0,00	0,03±0,00	0,02±0,00	0,05±0,01
E-α-Bergamotenas	1446	1,35±0,05	2,42±0,03	1,81±0,05	2,87±0,07	1,14±0,03	1,55±0,01	1,48±0,05	2,96±0,02	1,13±0,02	2,36±0,01
γ-Elementas	1450	0,24±0,01	0,49±0,01	0,22±0,02	0,40±0,01	0,53±0,02	0,81±0,00	0,33±0,01	0,48±0,00	0,24±0,00	0,49±0,01
α-Guajenas	1453	0,12±0,01	0,18±0,01	0,21±0,02	0,25±0,01	0,04±0,00	0,06±0,00	0,13±0,00	0,20±0,00	0,10±0,00	0,21±0,01
Aromadendrenas	1456	0,03±0,00	0,04±0,00	0,05±0,00	0,03±0,00	–	0,04±0,00	0,03±0,00	0,05±0,00	0,03±0,00	0,05±0,00
Z-β-Farnesenas	1460	0,03±0,00	0,05±0,00	0,07±0,01	0,06±0,00	–	–	0,03±0,00	0,05±0,00	0,03±0,00	0,04±0,00
E-β-Farnesenas	1465	3,14±0,09	5,55±0,04	4,05±0,18	5,92±0,12	2,60±0,06	3,28±0,01	3,53±0,10	6,85±0,05	2,67±0,03	5,19±0,05
α-Humulenas	1468	7,23±0,14	9,14±0,14	5,80±0,15	8,15±0,24	5,49±0,08	6,97±0,04	8,86±0,14	11,52±0,10	6,77±0,08	9,67±0,03
β-Santalenas	1474	0,48±0,02	0,78±0,01	0,54±0,05	0,67±0,02	0,46±0,01	0,62±0,00	0,34±0,01	0,63±0,00	0,36±0,00	0,73±0,00
Seskvisabinenas	1482	0,10±0,00	0,24±0,01	0,12±0,01	0,32±0,00	0,12±0,00	0,16±0,00	0,09±0,00	0,17±0,00	0,07±0,00	0,23±0,00
γ-Gurjunenas	1487	0,13±0,00	0,07±0,00	–	0,16±0,02	0,05±0,00	0,06±0,00	–	–	0,03±0,00	0,09±0,00
γ-Murolenas	1491	0,58±0,03	0,97±0,07	–	–	0,67±0,01	0,89±0,05	0,54±0,03	–	0,48±0,01	–
4,5-di-epi-Aristolochenas	1492	0,37±0,02	0,48±0,03	0,40±0,04	0,46±0,07	0,36±0,06	0,50±0,00	0,38±0,07	0,74±0,01	0,19±0,00	0,81±0,00
β-Selinenas	1500	2,52±0,10	4,63±0,07	3,12±0,10	4,81±0,14	2,77±0,06	3,63±0,02	2,93±0,10	5,60±0,03	1,97±0,02	4,93±0,03
α-Selinenas	1508	1,98±0,07	2,85±0,03	1,87±0,06	2,80±0,08	2,22±0,04	2,93±0,03	1,93±0,08	3,65±0,04	1,53±0,02	3,29±0,02

4 priedo tęsinys

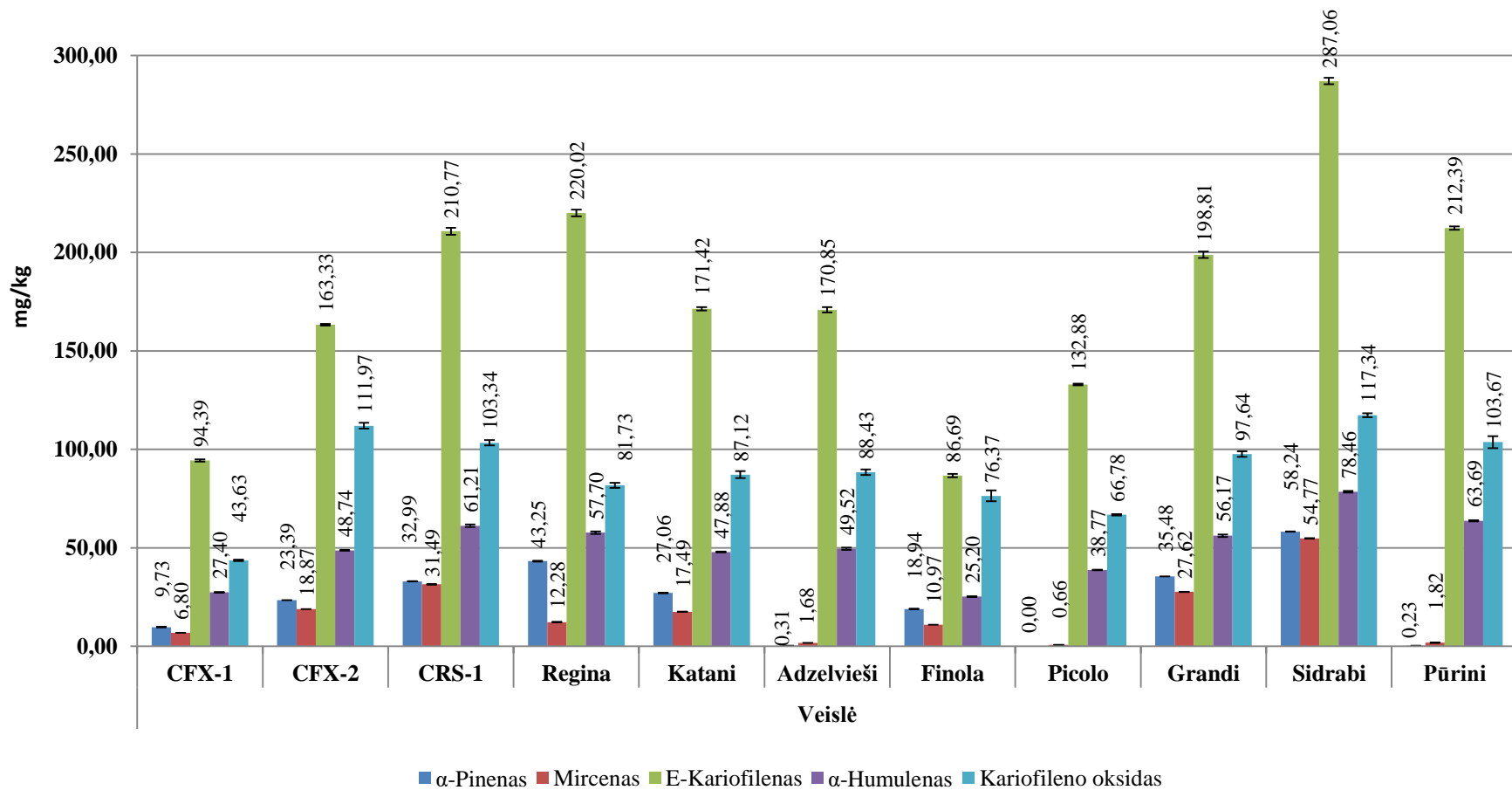
α -Murolenas	1511	0,04±0,00	0,03±0,00	0,05±0,01	0,06±0,01	0,04±0,00	0,04±0,01	0,02±0,00	0,05±0,00	–	0,05±0,00
α -E,E-Farnesenas	1515	0,47±0,04	0,56±0,01	0,50±0,05	1,07±0,04	0,43±0,01	0,34±0,01	0,41±0,01	0,65±0,01	0,26±0,00	0,58±0,00
β -Bisabolenas	1518	0,56±0,02	1,37±0,03	0,56±0,06	0,72±0,01	1,17±0,04	1,96±0,03	0,93±0,05	1,62±0,02	0,61±0,01	1,32±0,01
γ -Kadinenas	1523	0,20±0,01	0,20±0,00	0,21±0,02	0,26±0,01	0,13±0,01	0,13±0,01	0,16±0,01	0,37±0,00	0,15±0,00	0,32±0,00
α -Bulnesenas	1528	0,11±0,01	0,05±0,00	0,10±0,01	0,05±0,00	0,05±0,00	0,04±0,01	–	–	–	–
Seskvicineolis	1534	0,14±0,01	0,08±0,00	0,18±0,02	0,28±0,01	0,08±0,01	0,20±0,03	0,08±0,01	0,38±0,00	0,07±0,00	0,38±0,00
7-epi- α -Selinenas	1536	0,10±0,01	–	0,16±0,01	–	–	–	0,04±0,00	–	0,03±0,00	–
β -Seskvifelandrenas	1537	0,81±0,03	1,21±0,01	0,92±0,03	1,18±0,04	0,78±0,03	0,45±0,02	0,81±0,03	1,53±0,01	0,55±0,01	0,97±0,02
Δ -Kadinenas	1540	0,09±0,00	0,22±0,01	0,39±0,03	0,25±0,00	0,08±0,01	0,10±0,00	0,04±0,00	0,05±0,00	0,10±0,00	0,26±0,01
E-Kadina-1,4-dienas	1551	0,02±0,00	0,04±0,01	–	–	0,06±0,00	0,07±0,00	0,03±0,00	0,05±0,00	0,02±0,00	0,03±0,00
Seskvisabineno hidratas	1554	0,26±0,01	0,40±0,04	0,09±0,01	0,30±0,01	0,29±0,01	0,46±0,01	0,27±0,04	0,49±0,02	0,15±0,00	0,41±0,02
Selina-3,7(11)-dienas	1557	0,14±0,01	0,08±0,00	0,17±0,01	0,11±0,00	0,15±0,01	0,22±0,00	0,12±0,00	0,11±0,00	0,11±0,00	0,16±0,00
β -Germakrenas	1570	0,20±0,01	0,21±0,02	0,26±0,01	0,15±0,00	0,03±0,00	0,03±0,00	0,14±0,00	0,15±0,00	0,03±0,00	0,03±0,00
E-Nerolidolis	1575	0,62±0,03	0,55±0,02	0,84±0,06	0,51±0,01	1,08±0,02	0,62±0,01	0,62±0,01	0,49±0,01	0,36±0,02	0,54±0,00
Longipinanolis	1587	0,20±0,01	0,29±0,03	0,27±0,02	0,17±0,00	0,16±0,00	0,18±0,00	0,09±0,00	0,13±0,00	0,08±0,00	0,14±0,00
E-Seskvisabineno hidratas	1593	0,69±0,03	0,80±0,02	0,59±0,00	0,36±0,02	–	–	–	–	–	–
Kariofileno oksidas	1600	3,96±0,15	3,69±0,05	10,88±0,71	6,58±0,18	4,32±0,11	2,78±0,05	2,37±0,04	2,66±0,02	4,82±0,13	4,68±0,05
Guajolis	1614	0,11±0,01	0,10±0,00	0,07±0,00	0,09±0,00	0,18±0,01	0,06±0,00	0,05±0,00	0,07±0,00	0,13±0,01	0,11±0,01
Ledolis	1618	0,18±0,01	0,16±0,00	0,41±0,02	0,20±0,01	0,05±0,00	0,11±0,00	0,08±0,01	0,09±0,01	0,15±0,01	0,11±0,02
Humuleno epoksidai II	1630	0,86±0,04	0,80±0,01	2,62±0,10	1,62±0,05	0,97±0,04	0,59±0,01	0,58±0,02	0,62±0,01	1,19±0,07	1,08±0,02
10-epi- γ -Eudesmolis	1639	0,10±0,01	0,04±0,00	0,75±0,03	0,16±0,00	0,67±0,15	0,09±0,00	0,31±0,02	0,17±0,00	0,35±0,02	0,15±0,01
γ -Eudesmolis	1652	0,66±0,04	0,65±0,02	1,17±0,05	0,44±0,01	0,50±0,04	0,31±0,01	0,32±0,01	0,24±0,00	0,55±0,04	0,45±0,02
Kariofila-4(12),8(13)-dien-5 β -olis	1656	0,40±0,03	0,29±0,01	1,66±0,07	0,72±0,02	0,72±0,04	0,23±0,01	0,46±0,01	0,33±0,01	0,79±0,05	0,66±0,03
β -Eudesmolis	1673	0,74±0,03	0,63±0,02	0,69±0,01	0,43±0,01	0,96±0,01	0,47±0,06	0,42±0,02	0,35±0,01	0,34±0,03	0,42±0,01
α -Eudesmolis	1675	0,04±0,01	0,08±0,00	0,27±0,02	0,16±0,01	0,06±0,00	0,05±0,00	0,07±0,00	0,07±0,00	0,11±0,00	0,14±0,00
Neo-Intermedeolis	1678	0,42±0,02	0,34±0,01	0,34±0,01	0,21±0,01	0,56±0,02	0,25±0,03	0,26±0,01	0,24±0,00	0,23±0,02	0,26±0,00
14-hydroxy-Z-Kariofilenas	1683	0,05±0,01	0,06±0,00	0,09±0,02	0,06±0,00	0,06±0,01	0,04±0,00	0,03±0,01	0,03±0,00	0,02±0,00	0,04±0,00
β -Bisabololis	1691	0,84±0,04	0,82±0,02	1,84±0,02	1,15±0,04	0,79±0,08	0,41±0,03	0,68±0,03	0,53±0,03	0,92±0,05	0,82±0,02
α -Bisabololis	1698	1,51±0,05	0,92±0,02	0,57±0,00	0,63±0,02	0,53±0,04	0,18±0,01	0,88±0,04	0,63±0,01	0,48±0,04	0,67±0,01
Z- α -trans-Bergamotolis	1701	0,20±0,02	0,17±0,01	0,15±0,01	0,14±0,01	0,14±0,01	0,03±0,00	0,14±0,02	0,12±0,01	0,12±0,02	0,12±0,00
2-Pentadekanonas	1705	0,04±0,00	0,04±0,00	0,03±0,01	0,02±0,00	0,04±0,01	0,04±0,00	0,05±0,01	0,03±0,00	0,03±0,00	0,02±0,00
Eudesm-7(11)-en-4-olis	1716	0,08±0,00	0,09±0,00	0,04±0,00	0,03±0,00	0,23±0,01	0,11±0,00	0,09±0,01	0,06±0,00	0,06±0,01	0,08±0,00
Metilheksadekanoatas	1934	–	–	–	0,05±0,00	–	0,62±0,02	–	–	–	–
Metillinoleatas	2103	0,12±0,02	0,16±0,02	0,09±0,02	0,10±0,01	0,11±0,03	0,27±0,02	–	–	–	–
Metillinolenatas	2114	0,17±0,03	0,22±0,06	0,02±0,00	0,50±0,08	0,04±0,00	0,45±0,06	–	–	–	–

4 priedo tęsinys

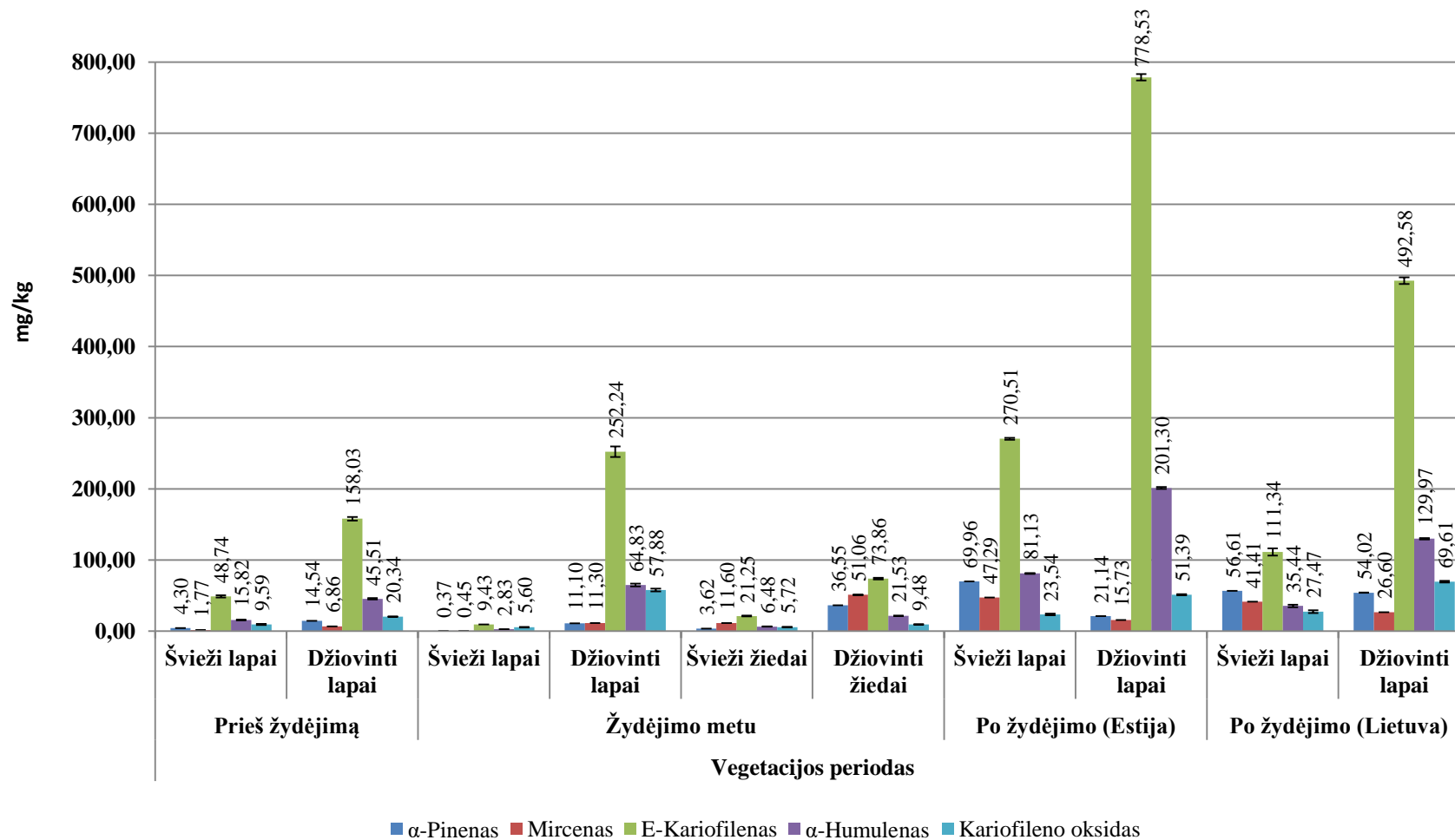
Fitolis	2125	4,43±0,05	4,76±0,08	8,06±0,08	6,05±0,61	1,38±0,09	0,17±0,01	0,44±0,01	0,59±0,05	0,41±0,05	0,63±0,09
Trikozanas	2300	0,03±0,01	–	0,11±0,02	0,02±0,00	0,04±0,00	–	0,06±0,01	0,04±0,00	0,04±0,01	0,02±0,01
CBD	2462	23,83±1,01	6,02±0,20	11,72±1,40	2,11±0,25	23,87±1,26	1,07±0,10	7,87±0,36	1,50±0,07	6,63±0,06	1,73±0,05
CBC	2467	0,17±0,01	0,05±0,00	0,15±0,02	0,07±0,02	0,07±0,01	0,08±0,02	0,04±0,01	–	0,03±0,00	–
CBL	2469	0,24±0,01	0,09±0,00	0,27±0,03	0,04±0,00	0,13±0,01	–	0,03±0,00	–	0,03±0,00	–
Pentakozanas	2500	0,06±0,01	0,02±0,00	0,23±0,03	0,05±0,02	0,51±0,02	0,09±0,01	0,04±0,01	0,02±0,00	0,03±0,00	–
Δ^8 -THC	2516	0,10±0,01	0,02±0,00	0,06±0,01	–	0,10±0,01	–	0,03±0,01	–	0,03±0,00	–
Δ^9 -THC	2557	1,10±0,01	0,26±0,01	0,71±0,10	0,08±0,01	1,30±0,06	0,05±0,01	0,28±0,06	0,08±0,01	0,14±0,03	0,09±0,01
CBN	2631	0,07±0,01	–	0,04±0,01	–	0,05±0,01	–	–	–	–	–
Heptakozanas	2700	0,24±0,03	0,09±0,02	0,52±0,07	0,11±0,02	0,23±0,02	0,03±0,00	0,05±0,01	0,02±0,00	0,04±0,01	
Nonakozanas	2900	0,20±0,01	0,08±0,01	0,10±0,00	0,10±0,01	0,26±0,03	0,03±0,01	0,09±0,01	0,03±0,00	0,10±0,02	0,03±0,00

^aKovąts sulaikymo indeksas apskaičiuotas pagal C₇-C₃₀ standartinį alkanų mišinį nepolinėje Elite-5 kolonėje; ^bIdentifikuota pagal GC-TOD/MS spektrus ir Kovąts sulaikymo indeksą

5 priedas. Skirtingų kanapių veislių dominuojančių monoterpenų ir seskviterpenų kiekis, mg/kg S.M



6 priedas. 'Finola' skirtingo vegetacijos periodo dominuojančių monoterpenų ir seskviterpenų kiekis, mg/kg*



*šviežiems lapams ir žiedams šviežioje medžiagoje, džiovintiems lapams ir žiedams sausoje medžiagoje

7 priedas. 'Finola' ekstraktų, išfrakcionuotų superkrizinio anglies dvideginio (SFE-CO₂), detali komponentų cheminė sudėtis, %

Junginys ^b	KI ^a	0% EtOH								5% EtOH							
		0°C		-10°C		-20°C		-30°C		0°C		-10°C		-20°C		-30°C	
		VF*	LF*	VF	LF	VF	LF	VF	LF	VF	LF	VF	LF	VF	LF	VF	LF
<i>α</i> -Z-Bergamotenas	1411	–	0,09±0,02	–	0,07±0,01	–	0,06±0,00	–	0,09±0,01	–	–	–	0,11±0,00	–	0,10±0,02	–	–
<i>α</i> -Santalenas	1423	–	–	–	0,12±0,01	–	0,11±0,03	–	0,14±0,02	–	0,15±0,02	–	0,11±0,01	–	–	–	–
E-Kariofilenas	1430	4,46±0,05	7,12±1,00	3,55±0,22	9,29±0,26	6,09±0,61	7,42±0,06	4,56±0,30	10,54±0,33	–	11,89±0,42	–	13,22±3,11	–	8,85±0,27	–	8,72±0,61
<i>α</i> -E-Bergamotenas	1444	0,35±0,06	0,58±0,10	0,27±0,07	0,81±0,04	0,52±0,09	0,70±0,13	0,24±0,04	0,97±0,15	–	0,92±0,17	–	0,80±0,18	–	0,72±0,01	–	0,72±0,00
<i>α</i> -Guajenas	1448	–	–	–	0,09±0,01	–	0,09±0,02	–	0,10±0,02	–	–	–	0,09±0,00	–	–	–	–
E- <i>β</i> -Farnesenas	1463	0,46±0,02	1,42±0,16	0,28±0,03	1,84±0,07	0,75±0,11	1,44±0,01	0,26±0,01	1,99±0,05	–	1,72±0,22	–	1,23±0,17	–	1,13±0,04	–	1,07±0,05
<i>α</i> -Humulenas	1465	1,35±0,02	3,08±0,38	1,11±0,05	3,30±0,18	1,81±0,18	2,56±0,01	1,77±0,14	3,56±0,12	–	3,81±0,28	–	3,13±0,14	–	2,79±0,12	–	2,93±0,08
Allo-Aromadendrenas	1472	–	0,14±0,03	–	0,18±0,01	–	0,18±0,05	–	0,22±0,03	–	0,20±0,04	–	0,18±0,03	–	0,15±0,02	–	0,14±0,03
4,5-di-epi-Aristolochenas	1486	–	0,15±0,03	–	0,19±0,01	–	0,20±0,05	–	0,23±0,04	–	0,16±0,03	–	0,16±0,03	–	0,13±0,02	–	0,13±0,02
<i>γ</i> -Gurjunenas	1494	–	0,25±0,05	–	0,30±0,03	–	0,27±0,06	–	0,34±0,01	–	0,29±0,05	–	0,25±0,01	–	0,22±0,03	–	0,20±0,04
<i>β</i> -Selinenas	1496	0,57±0,10	1,46±0,17	0,47±0,12	1,50±0,10	0,82±0,15	1,22±0,06	0,34±0,06	1,66±0,02	–	1,45±0,12	–	1,25±0,11	–	1,10±0,02	–	1,08±0,07
<i>α</i> -Selinenas	1506	0,40±0,06	1,25±0,13	0,34±0,08	1,28±0,07	0,56±0,10	1,01±0,05	0,28±0,06	1,38±0,01	–	1,15±0,08	–	0,98±0,02	–	0,86±0,04	–	0,80±0,07
Z- <i>α</i> -Bisabolenas	1516	–	0,42±0,10	–	0,53±0,04	0,19±0,04	0,44±0,08	–	0,57±0,08	–	0,34±0,05	–	0,46±0,13	–	–	–	–
Seskvicineolis	1519	–	0,10±0,02	–	0,13±0,01	–	0,14±0,03	–	0,15±0,02	–	–	–	0,41±0,01	–	–	–	–
7-epi- <i>α</i> -Selinenas	1525	–	0,13±0,03	–	0,18±0,04	–	0,17±0,04	–	0,17±0,02	–	–	–	–	–	–	–	–
<i>β</i> -Seskvifelandrenas	1532	–	0,55±0,11	–	0,70±0,04	–	0,44±0,16	–	0,36±0,06	–	0,35±0,02	–	0,39±0,08	–	0,30±0,06	–	0,28±0,06
Δ -Kadinenas	1538	–	0,08±0,02	–	0,08±0,01	–	0,08±0,02	–	0,09±0,02	–	–	–	0,24±0,08	–	0,30±0,02	–	–
<i>α</i> -Kadinenas	1546	–	0,10±0,03	–	0,07±0,00	–	0,10±0,02	–	0,09±0,01	–	–	–	–	–	–	–	–
Z-Seskvisabineno hidratas	1551	–	0,08±0,01	–	0,08±0,02	–	0,08±0,02	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
E-Nerolidolis	1571	–	0,33±0,07	–	0,31±0,02	–	0,29±0,05	–	0,37±0,05	–	0,14±0,01	–	0,15±0,03	–	0,12±0,01	–	0,12±0,02
Kariofileno oksidas	1597	0,85±0,02	2,61±0,28	0,70±0,16	2,16±0,10	0,97±0,06	1,85±0,06	0,53±0,15	2,44±0,16	–	1,39±0,16	–	1,78±0,13	–	1,21±0,06	–	1,26±0,13

7 priedo tęsinys

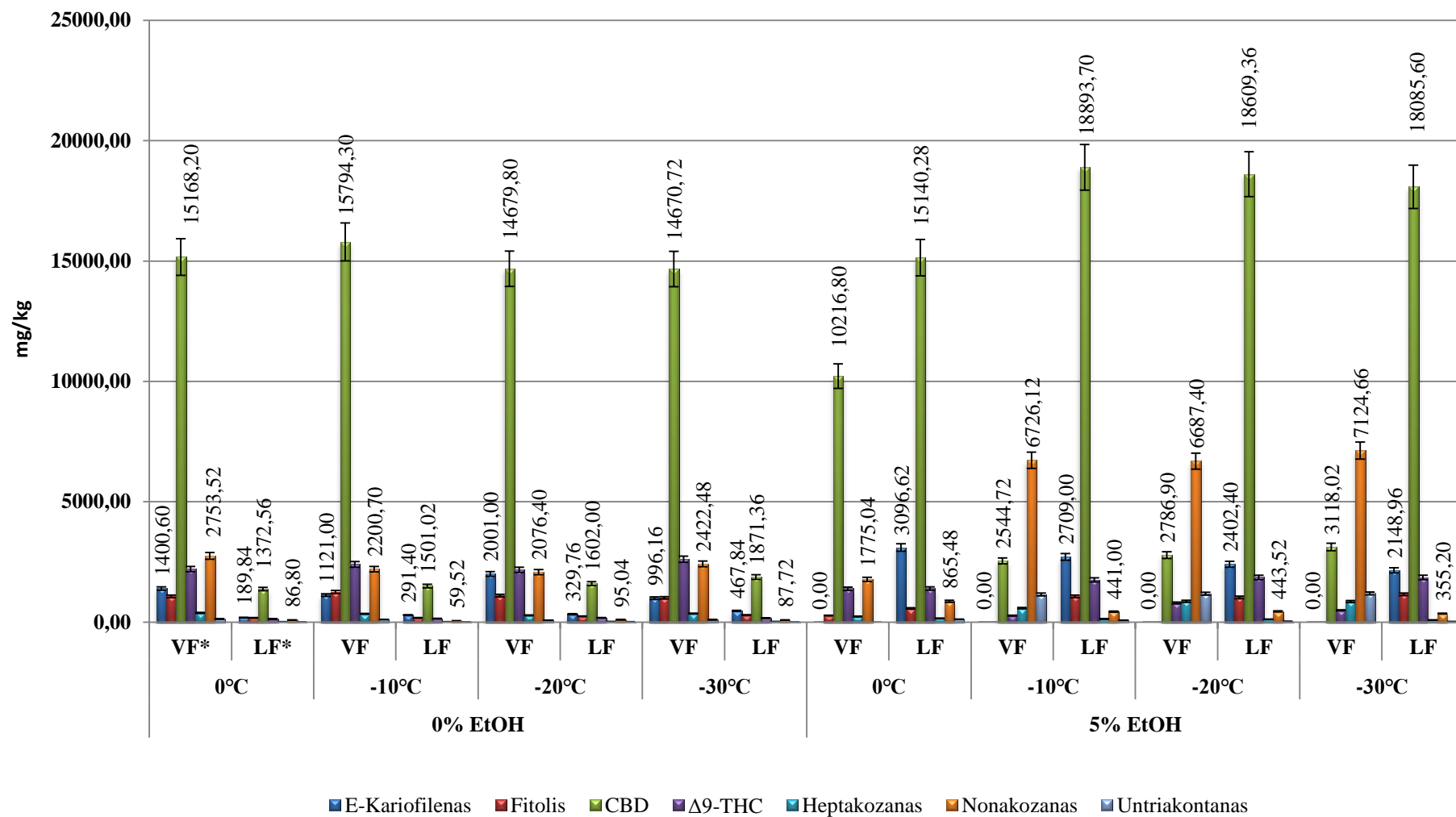
Humuleno epoksidas II	1625	0,19±0,04	0,69±0,15	0,19±0,04	0,66±0,02	0,23±0,05	0,61±0,10	–	0,78±0,11	–	0,36±0,07	–	0,53±0,00	–	0,32±0,04	–	0,33±0,07
Kariofila-4(12),8(13)-dien-5β-olis	1661	–	0,11±0,01	–	0,12±0,00	–	0,14±0,00	–	0,15±0,02	–	–	–	0,09±0,01	–	–	–	–
β-Eudesmolis	1671	–	0,19±0,04	–	0,14±0,01	–	0,11±0,02	–	0,17±0,01	–	–	–	0,15±0,02	–	0,13±0,00	–	0,12±0,00
Neo-Intermedeolis	1677	–	0,17±0,02	–	0,16±0,01	–	0,17±0,02	–	0,20±0,02	–	–	–	0,08±0,00	–	–	–	–
14-hidroksi-Z-Kariofilenas	1683	–	0,14±0,01	–	0,18±0,00	–	0,20±0,04	–	0,17±0,00	–	0,09±0,00	–	0,23±0,06	–	–	–	–
β-Bisabololis	1687	0,23±0,05	0,58±0,13	0,24±0,05	0,46±0,06	0,13±0,00	0,50±0,13	–	0,57±0,07	–	0,19±0,00	–	0,29±0,03	–	0,18±0,08	–	0,12±0,03
α-Bisabololis	1695	0,16±0,02	0,52±0,12	0,18±0,03	0,43±0,01	0,17±0,00	0,48±0,11	–	0,53±0,07	–	0,16±0,03	–	0,29±0,04	–	0,16±0,02	–	0,18±0,02
2-Pentadekanonas	1703	–	0,08±0,00	–	0,08±0,00	–	0,07±0,01	–	0,09±0,01	–	–	–	–	–	–	–	–
Eudesm-7(11)-en-4-olis	1718	–	0,17±0,03	–	0,20±0,01	–	0,22±0,03	–	0,23±0,00	–	–	–	0,14±0,00	–	–	–	0,07±0,00
Etiltetradekanooatas	1808	–	0,36±0,08	0,24±0,07	0,46±0,11	–	0,49±0,08	–	0,52±0,10	–	0,38±0,00	–	0,53±0,05	–	0,59±0,09	–	0,44±0,05
Heksadekanoinė rūgštis	1951	–	0,10±0,01	–	0,09±0,01	–	0,10±0,01	–	0,11±0,01	–	–	–	–	–	–	–	–
Metillinolenatas	2103	–	–	–	–	–	–	–	–	–	0,18±0,00	–	0,16±0,04	–	0,12±0,03	–	0,12±0,00
Fitolis	2120	3,71±0,22	6,89±0,48	4,13±0,23	5,94±0,22	3,74±0,04	6,02±0,18	4,42±0,22	7,01±0,21	1,32±0,26	2,77±0,17	–	4,06±0,36	–	3,40±0,19	–	4,04±0,27
E-Fitolio acetatas	2247	1,60±0,05	1,91±0,05	1,76±0,07	1,83±0,04	1,68±0,08	1,89±0,06	1,75±0,13	1,83±0,04	1,70±0,12	1,76±0,12	–	2,22±0,18	–	2,05±0,13	–	2,16±0,06
Trikozanas	2300	0,24±0,02	0,28±0,03	0,50±0,16	0,25±0,03	0,40±0,09	0,30±0,02	0,53±0,10	0,27±0,01	–	0,37±0,07	–	0,19±0,01	–	0,32±0,02	–	0,22±0,03
Δ ⁹ -THCV	2347	0,32±0,03	0,26±0,02	0,38±0,08	0,25±0,02	0,32±0,04	0,25±0,03	0,38±0,02	0,22±0,01	–	0,22±0,00	–	0,25±0,03	–	0,19±0,01	–	0,21±0,03
Z-9-Oktadecenamidai	2378	1,44±0,05	–	0,91±0,04	–	1,93±0,13	–	2,05±0,12	–	–	0,16±0,02	–	0,17±0,03	–	0,15±0,02	–	0,18±0,03
CBD	2462	52,27±0,62	52,99±0,24	54,38±0,49	49,03±0,79	51,85±0,55	51,80±0,30	53,46±0,81	46,03±0,29	60,57±1,44	53,30±1,47	19,43±0,56	64,72±0,08	24,11±0,07	61,44±1,70	20,61±1,32	61,01±1,81
CBC	2467	0,30±0,04	0,63±0,06	0,31±0,05	0,24±0,00	0,71±0,05	0,30±0,02	0,89±0,03	0,32±0,03	–	0,14±0,03	–	0,22±0,00	–	0,13±0,01	–	0,14±0,01
CBL	2469	0,39±0,05	0,18±0,00	0,26±0,03	0,20±0,03	0,18±0,03	0,17±0,04	0,24±0,03	0,18±0,06	–	–	–	0,17±0,00	–	0,15±0,03	–	–
Pentakozanas	2500	0,37±0,04	0,31±0,08	0,32±0,07	0,37±0,04	0,31±0,07	0,34±0,08	0,34±0,04	0,28±0,05	–	0,22±0,01	–	0,30±0,02	–	0,33±0,08	–	0,36±0,07
Δ ⁸ -THC	2516	0,68±0,02	0,50±0,02	0,66±0,01	0,46±0,01	0,55±0,01	0,44±0,04	0,65±0,04	0,40±0,03	–	0,36±0,00	–	0,47±0,03	–	0,40±0,11	–	0,42±0,07
Δ ⁹ -THC	2561	7,58±0,33	4,86±0,40	8,34±0,26	4,86±0,06	7,59±0,25	4,72±0,60	9,57±0,34	4,06±0,33	8,42±0,14	5,14±0,38	2,01±0,08	6,03±0,02	3,32±0,00	6,15±0,18	3,02±0,29	6,19±0,21

7 priedo tęsinys

Heksakozanas	2600	0,25±0, 02	0,67±0, 15	0,26±0, 01	0,55±0, 11	0,24±0, 01	0,47±0, 06	0,25±0, 00	0,47±0, 06	–	0,57±0, 00	–	0,25±0, 04	–	0,40±0, 00	–	0,47±0, 00
CBG	2624	0,23±0, 02	0,13±0, 03	0,19±0, 02	0,13±0, 22	0,15±0, 00	0,13±0, 03	–	0,10±0, 00	–	–	–	0,23±0, 02	–	0,18±0, 01	–	0,21±0, 00
CBN	2634	0,25±0, 03	0,18±0, 03	0,37±0, 03	0,17±0, 01	0,37±0, 04	0,16±0, 02	0,48±0, 08	0,17±0, 02	–	0,19±0, 01	–	0,24±0, 03	–	0,23±0, 03	–	0,23±0, 03
Heptakozanas	2700	1,31±0, 06	0,84±0, 07	1,19±0, 05	0,60±0, 02	0,99±0, 06	0,70±0, 07	1,32±0, 07	0,67±0, 07	1,10±0, 09	0,57±0, 05	4,34±0, 48	0,45±0, 09	6,36±0, 75	0,38±0, 02	5,81±0, 27	0,31±0, 02
Oktakozanas	2800	0,27±0, 03	0,14±0, 02	0,26±0, 00	0,25±0, 02	0,33±0, 09	0,27±0, 04	0,45±0, 04	0,22±0, 00	3,40±0, 24	0,23±0, 03	2,60±0, 47	0,36±0, 02	3,14±0, 00	0,35±0, 00	3,24±0, 49	0,38±0, 00
Skvalenas	2839	0,58±0, 04	0,96±0, 13	0,57±0, 02	0,85±0, 02	0,60±0, 05	1,05±0, 04	0,51±0, 01	0,89±0, 14	–	0,57±0, 08	–	0,55±0, 02	–	0,50±0, 02	–	0,46±0, 04
Nonakozanas	2900	9,70±0, 35	3,47±0, 02	7,66±0, 09	1,94±0, 08	7,23±0, 68	2,89±0, 01	8,85±0, 44	2,44±0, 43	10,57±0, 50	3,51±0, 12	55,60±2, 71	1,52±0, 13	63,75±4, 28	1,47±0, 10	50,49±0, 04	1,22±0, 14
Triakontanas	3000	0,34±0, 02	0,11±0, 01	0,23±0, 00	0,11±0, 01	0,23±0, 03	0,08±0, 01	0,22±0, 01	0,13±0, 00	1,74±0, 18	0,12±0, 00	1,82±0, 09	0,13±0, 00	1,97±0, 46	0,09±0, 00	1,81±0, 12	0,07±0, 00
Untriakontanas	3100	0,47±0, 07	0,23±0, 05	0,46±0, 04	0,23±0, 06	0,31±0, 04	0,32±0, 00	0,32±0, 00	0,19±0, 02	–	0,20±0, 00	8,92±0, 42	0,28±0, 05	8,63±0, 03	0,14±0, 02	8,19±0, 48	0,07±0, 00
α-Tokoferolis	3104	1,52±0, 09	0,34±0, 07	1,16±0, 04	0,17±0, 03	1,21±0, 15	0,25±0, 06	1,39±0, 11	0,18±0, 01	–	0,46±0, 08	–	1,03±0, 08	–	0,66±0, 05	–	0,68±0, 13

*VF – vaškų frakcija, LF – laki frakcija; ^aKovąts sulaikymo indeksas apskaičiuotas pagal C₇-C₃₀ standartinį alkanų mišinį nepolinėje Elite-5 kolonėje; ^bIdentifikuota pagal GC-TOF/MS spektrus ir Kovąts sulaikymo indeksą

8 priedas. 'Finola' ekstraktų, išfrakcionuotų superkritiniu anglies dvideginiu (SFE-CO₂), dominuojančių komponentų kiekis, mg/kg S.M



*VF – vaškų frakcija, LF – laki frakcija