



Kauno technologijos universitetas

Cheminės technologijos fakultetas



Lietuvos sveikatos mokslų universitetas

Farmacijos fakultetas

Eterinių aliejų cheminės sudėties nustatymas bei biologinio aktyvumo įvertinimas ir panaudojimas alternatyvaus valiklio prieš patogenus gamyboje

Baigiamasis magistro projektas

Liveta Anisimenkaitė

Projekto autorė

doc. Dr. Renata Žvirdauskienė

Vadovė

Kaunas, 2025



Kauno technologijos universitetas
Cheminės technologijos fakultetas



Lietuvos sveikatos mokslų universitetas
Farmacijos fakultetas

Eterinių aliejų cheminės sudėties nustatymas bei biologinio aktyvumo įvertinimas ir panaudojimas alternatyvaus valiklio prieš patogenus gamyboje

Baigiamasis magistro projektas

Medicininė chemija (6281CX001)

Liveta Anisimenkaitė

Projekto autorė

doc. Dr. Renata Žvirdauskienė

Vadovė

Renata Baranauskienė

Konsultantė

Dr. Sigita Jeznienė

Recenzentas / Recenzentė

Kaunas, 2025



Kauno technologijos universitetas

Cheminės technologijos fakultetas

Lietuvos sveikatos mokslų universitetas

Farmacijos fakultetas

Liveta Anisimenkaitė

Eterinių aliejų cheminės sudėties nustatymas bei biologinio aktyvumo įvertinimas ir panaudojimas alternatyvaus valiklio prieš patogenus gamyboje

Akademinių sąžiningumo deklaracija

Patvirtinu, kad:

1. baigiamąjį projektą parengiau savarankiškai ir sąžiningai, nepažeisdama kitų asmenų autoriaus ar kitų teisių, laikydamasi Lietuvos Respublikos autorių teisių ir gretutinių teisių įstatymo nuostatų, Kauno technologijos universiteto (toliau – KTU) ir Lietuvos sveikatos universiteto (toliau – LSMU) intelektinės nuosavybės valdymo ir perdavimo nuostatų bei KTU ir LSMU akademinės etikos kodeksuose nustatytų etikos reikalavimų;
2. baigiamajame projekte visi pateikti duomenys ir tyrimų rezultatai yra teisingi ir gauti teisėtai, nei viena šio projekto dalis nėra plagijuota nuo jokių spausdintinių ar elektroninių šaltinių, visos baigiamojo projekto tekste pateiktos citatos ir nuorodos yra nurodytos literatūros sąrašė;
3. įstatymų nenumatytų piniginių sumų už baigiamąjį projektą ar jo dalis niekam nesu mokėjusi;
4. suprantu, kad išaiškėjus nesąžiningumo ar kitų asmenų teisių pažeidimo faktui, man bus taikomos akademinės nuobaudos pagal KTU ar LSMU galiojančią tvarką ir būsiu pašalinta iš KTU ar LSMU, o baigiamasis projektas gali būti pateiktas Akademinės etikos ir procedūrų kontrolieriaus tarnybai nagrinėjant galimą akademinės etikos pažeidimą.

Liveta Anisimenkaitė

Patvirtinta elektroniniu būdu

Anisimenkaitė, Liveta. Eterinių aliejų cheminės sudėties nustatymas bei biologinio aktyvumo įvertinimas ir panaudojimas alternatyvaus valiklio prieš patogenus gamyboje. Baigiamasis magistro projektas / vadovė doc. dr. Renata Žvirdauskienė; Kauno technologijos universitetas, Cheminės technologijos fakultetas; Lietuvos sveikatos mokslų universitetas, Farmacijos fakultetas.

Studijų kryptis ir sritis (studijų kryptių grupė): chemija, fiziniai mokslai.

Reikšminiai žodžiai: eteriniai aliejai, cheminė sudėtis, antimikrobinis aktyvumas, valikliai.

Kaunas, 2025. 63 p.

Santrauka

Didėjantis patogenų atsparumas antibiotikams ir sintetinių valiklių keliami pavojai žmogaus sveikatai paskatino ieškoti alternatyvių, saugesnių ir biologiškai aktyvių medžiagų. Šiame darbe siekta ištirti eterinių aliejų kaip veikliųjų medžiagų potencialą alternatyviuose paviršiaus valikliuose, ypač skirtuose mikrobiologinio užterštumo kontrolei laboratorijų ir sveikatos priežiūros įstaigų aplinkose. Šiame darbe taikant dujų chromatografijos ir masių spektrometrijos metodus atlikta tikrojo pačiulio (lot. *Pogostemon cablin* Benth.), apelsininio citrinmedžio (lot. *Citrus sinensis* L.) ir Teksaso kedro (lot. *Juniperus mexicana* Schiede.) eterinių aliejų cheminės sudėties analizė, identifikuoti pagrindiniai aktyvūs junginiai. Tikrojo pačiulio pagrindiniai komponentai: pačiulio alkoholis 25,47 %, α -guajenas 15,12 %, α -bulnesenas 18,84 %. Teksaso kedro eterinio aliejaus pagrindiniai sudėties komponentai: tujopsenas 34,99 %, cedrolis 20,52 % ir α -cedrenas 15,83 %. Apelsininio citrinmedžio eterinio aliejaus pagrindinis komponentas – limonenas 95,37 %. Įvertintas ir ištirtas eterinių aliejų antibakterinis bei fungicidinis aktyvumas prieš patogenus. Dėl per mažo Teksaso kedro eterinio aliejaus antimikrobinio poveikio, jis tolimesniems tyrimams nebuvo naudojamas. Remiantis gautais eterinių aliejų tyrimų rezultatais ir literatūros analize buvo sukurti alternatyvūs valikliai, kurių poveikis prieš patogenus buvo patikrintas eksperimentiniais tyrimais. Tyrimų metu nustatyta, kad valiklyje esančios paviršinės aktyvumo medžiagos sinergetiškai padėjo tikrojo pačiulio ir apelsininio citrinmedžio eteriniams aliejams labiau slopinti patogenus. Tiriant bakterijų ir mielių kultūras matomas stiprus patogenų jautrumo padidėjimas. Tyrimų rezultatai rodo, kad tokio tipo valikliai gali būti naudingi mažinant paviršių mikrobinę taršą bei infekcijų plitimą, kartu sumažinant cheminių medžiagų naudojimo keliamą riziką sveikatai ir aplinkai.

Anisimenkaitė, Liveta. Determination of the Chemical Composition of Essential Oils and Evaluation of Biological Activity and Use in the Production of an Alternative Cleaner Against Pathogens. Master's Final Degree Project / Supervisor assoc. prof. dr. Renata Žvirdauskienė; Faculty of Chemical Technology, Kaunas University of Technology; Faculty of Pharmacy, Lithuanian University of Health Sciences.

Study field and area (study field group): Chemistry, Physical Sciences.

Keywords: essential oils, chemical composition, antimicrobial activity, cleaning agents.

Kaunas, 2025. 63 pages.

Summary

The increasing resistance of pathogens to antibiotics and the risks to human health posed by synthetic cleaners have prompted the search for alternative, safer and bioactive substances. The aim of this work was to investigate the potential of essential oils as active agents in alternative surface cleaners, particularly for the control of microbiological contamination in laboratory and healthcare environments. In this work, the chemical composition of the essential oils of the patchouli (lot. *Pogostemon cablin* Benth.), orange lemon (lot. *Citrus sinensis* L.) and Texas cedar (lot. *Juniperus mexicana* Schiede.) was analyzed by gas chromatography and mass spectrometry, and the main active compounds identified. The main components of true patchouli are patchouli alcohol 25.47 %, α -guaiane 15.12 %, α -bulnesene 18.84 %. The main constituents of Texas cedarwood essential oil are: thujopsene 34.99 %, cedrol 20.52 % and α -cedrene 15.83 %. The main constituent of orange lemon essential oil is limonene 95.37 %. The antibacterial and fungicidal activity of the essential oils against pathogens has been evaluated and tested. Due to the low antimicrobial activity of Texas cedarwood essential oil, it was not used for further studies. Based on the results obtained for the essential oils and the literature analysis, alternative cleaning agents were formulated and their effects against pathogens were verified experimentally. The studies showed that the surfactants in the cleaner synergistically contributed to the enhanced inhibition of pathogens by the essential oils of pathogenic patchouli and orange lemon tree. Bacterial and yeast cultures showed a strong increase in pathogen susceptibility. The results of the study suggest that this type of cleaners may be useful in reducing microbial contamination of surfaces and the spread of infections, while minimizing the health and environmental risks of chemical use.

Turinys

Lentelių sąrašas	7
Paveikslų sąrašas	8
Santrumpų sąrašas	9
Įvadas	10
1. Literatūros apžvalga	11
1.1. Eterinių aliejų perspektyva medicinoje.....	11
1.2. Patogenai	12
1.3. Eterinių aliejų savybės ir panaudojimas	13
1.3.1. Tikrojo pačiulio (lot. <i>Pogostemon cablin</i> Benth.) eterinis aliejus.....	14
1.3.2. Apelsininio citrinmedžio (lot. <i>Citrus sinensis</i> L.) eterinis aliejus	16
1.3.3. Teksaso kedro (lot. <i>Juniperus mexicana</i> Schiede) eterinis aliejus	17
1.4. Augalinės kilmės valikliai	18
1.4.1. Paviršinio aktyvumo medžiagos.....	19
1.5. Literatūros apžvalgos apibendrinimas	20
2. Medžiagos ir tyrimų metodai	21
2.1. Tyrimų objektas.....	21
2.2. Laboratorinės priemonės ir įranga	21
2.3. Eterinių aliejų chemotipų nustatymas.....	22
2.4. Eterinių aliejų antioksidacinio aktyvumo nustatymas.....	22
2.5. Bendrosios fenolinių junginių koncentracijos nustatymas	23
2.6. Mikroorganizmų izoliatų ruošimas.....	25
2.7. Valiklio ruošimas	25
2.8. Eterinių aliejų ir valiklių tiriamųjų koncentracijų ruošimas.....	25
2.9. Eterinių aliejų ir valiklių fungicidinis poveikis mikroskopinių grybų augimui	26
2.10. Mikroskopinių grybų augimo slopinimo vertinimas.....	27
2.11. Eterinių aliejų ir valiklių slopinantis poveikis bakterijų ir mielių kultūrų augimui	27
2.12. Bakterijų ir mielių kultūrų augimo slopinimo vertinimas	28
2.13. Duomenų apdorojimas.....	29
3. Tyrimų rezultatai ir jų aptarimas.....	30
3.1. Apelsininio citrinmedžio (lot. <i>Citrus sinensis</i> L.) eterinio aliejaus chemotipas.....	30
3.2. Tikrojo pačiulio (lot. <i>Pogostemon cablin</i> Benth.) eterinio aliejaus chemotipas	32
3.3. Teksaso kedro (lot. <i>Juniperus mexicana</i> Schiede.) eterinio aliejaus chemotipas.....	34
3.4. Bendra fenolinių junginių koncentracija	37
3.5. Eterinių aliejų antioksidacinio aktyvumo įvertinimas, naudojant DPPH metodą.....	38
3.6. Skirtingų eterinių aliejų antimikrobinio aktyvumo tyrimai <i>in vitro</i>	39
3.6.1. Tikrojo pačiulio eterinio aliejaus antimikrobinio aktyvumo įvertinimas	40
3.6.2. Apelsininio citrinmedžio eterinio aliejaus antimikrobinio aktyvumo įvertinimas	44
3.6.3. Teksaso kedro eterinio aliejaus antimikrobinio aktyvumo įvertinimas.....	49
3.7. Alternatyvaus valiklio antimikrobinio aktyvumo įvertinimas	52
Rekomendacijos	55
Išvados	56
Literatūros sąrašas	57
Publikacijų sąrašas	63

Lentelių sąrašas

1 lentelė. Pačiulio eterinio aliejaus pagrindinės sudedamosios dalys [30]	16
2 lentelė. Kedro eterinio aliejaus pagrindinės sudedamosios dalys [53]	18
3 lentelė. Eterinių aliejų koncentracijos naudotos fungicidiniuose tyrimuose.....	25
4 lentelė. Valiklių koncentracijos naudotos fungicidiniuose tyrimuose	25
5 lentelė. Eterinių aliejų koncentracijos naudotos antibakteriniuose tyrimuose	26
6 lentelė. Slopavimo koeficiento jautrumo skalė, SK.....	27
7 lentelė. Mikroorganizmų jautrumo antimikrobinėms medžiagoms laipsnio įvertinimas pagal augimo slopinimo zonos plotį.....	29
8 lentelė. Apelsininio citrinmedžio eteriniame aliejuje identifikuoti komponentai ir jų koncentracijos	31
9 lentelė. Tikrojo pačiulio eteriniame aliejuje identifikuoti komponentai ir jų koncentracijos	32
10 lentelė. Teksaso kedro eteriniame aliejuje identifikuoti komponentai ir jų koncentracijos.....	35
11 lentelė. Pačiulio EA įtaka bakterijų augimui (slopavimo zona, mm ± standartinis nuokrypis) ...	40
12 lentelė. Pačiulio EA įtaka mielių augimui (slopavimo zona, mm ± standartinis nuokrypis)	41
13 lentelė. Tikrojo pačiulio EA įtaka mikroskopinių grybų augimui, SK	43
14 lentelė. Apelsininio citrinmedžio EA įtaka bakterijų augimui (slopavimo zona, mm ± standartinis nuokrypis).....	45
15 lentelė. Apelsininio citrinmedžio EA įtaka mielių augimui (slopavimo zona, mm ± standartinis nuokrypis).....	46
16 lentelė. Apelsininio citrinmedžio EA įtaka mikroskopinių grybų augimui, SK	47
17 lentelė. Kedro EA įtaka bakterijų augimui (slopavimo zona, mm ± standartinis nuokrypis).....	49
18 lentelė. Teksaso kedro EA įtaka mikroskopinių grybų augimui, SK.....	50
19 lentelė. Valiklių įtaka bakterijų augimui (slopavimo zona, mm ± standartinis nuokrypis).....	53
20 lentelė. Valiklių įtaka mielių augimui (slopavimo zona, mm ± standartinis nuokrypis).....	54
21 lentelė. Valiklių įtaka mikroskopinių grybų augimui (slopavimo zona, mm ± standartinis nuokrypis).....	54

Paveikslų sąrašas

1 pav. Bendras sistemiškai veikiančių antibakterinių vaistinių preparatų (J01) suvartojimas Europos šalyse 2023 m. [4].....	11
2 pav. Pasaulinis metinis eterinių aliejų rinkos didėjimas skirtingose šakose [24]	14
3 pav. Supaprastintas DPPH radikalo virtimas stabiliu DPPH	23
4 pav. Bendroji Folino – Kiokalto (FC) reakcija [12].....	24
5 pav. Tanino rūgšties kalibracinė kreivė	24
6 pav. Mikroskopinio grybo izoliato skersmens matavimas	27
7 pav. Bakterijų ir mielių kultūrų augimo slopinimo zonos matavimas	28
8 pav. Apelsininio citrinmedžio (lot. <i>Citrus sinensis</i> L.) EA chromatograma.....	30
9 pav. Dominuojančių apelsininio citrinmedžio (lot. <i>Citrus sinensis</i> L.) EA komponentų molekulinės struktūros	31
10 pav. Tikrojo pačiulio (lot. <i>Pogostemon cablin</i> Benth.) EA chromatograma	32
11 pav. Dominuojančių tikrojo pačiulio (lot. <i>Pogostemon cablin</i> Benth.) EA komponentų molekulinės struktūros.....	34
12 pav. Teksaso kedro (lot. <i>Juniperus mexicana</i> Schiede.) EA chromatograma.....	35
13 pav. Dominuojančių Teksaso kedro (lot. <i>Juniperus mexicana</i> Schiede.) EA komponentų molekulinės struktūros.....	37
14 pav. Bendra fenolinių junginių koncentracija eteriniuose aliejuose	38
15 pav. Stabilaus 2,2-difenil-1-pikrilhidrazilo (DPPH) radikalo neutralizacijos fenoliniais junginiais priklausomybė nuo skirtingų koncentracijų eterinių aliejų	39
16 pav. Antibakterinis tikrojo pačiulio EA (lot. <i>Pogostemon cablin</i> Benth.) poveikis bakterijų kultūroms a) <i>S. epidermidis</i> ; b) <i>S. aureus</i> ; c) <i>S. choleraesuis</i> ; d) <i>B. subtilis</i>	41
17 pav. Tikrojo pačiulio (lot. <i>Pogostemon cablin</i> Benth.) eterinio aliejaus poveikis <i>F. culmorum</i> augimui	42
18 pav. <i>F. culmorum</i> (FC) mikroskopinio grybo augimas, veikiant tikrojo pačiulio EA: a – 125 ppm; b – 250 ppm; c – 500 ppm; d – 1000 ppm; e – 3000 ppm; K – kontrolė	43
19 pav. Tikrojo pačiulio (lot. <i>Pogostemon cablin</i> Benth.) eterinio aliejaus poveikis <i>S. sclerotiorum</i> grybo augimui.....	44
20 pav. Antibakterinis apelsininio citrinmedžio EA (lot. <i>Citrus sinensis</i> L.) poveikis bakterijų kultūroms a) <i>E. coli</i> ; b) <i>S. typhimurium</i>	46
21 pav. Fungicidinis apelsininio citrinmedžio EA (lot. <i>Citrus sinensis</i> L.) poveikis mielių kultūroms a) <i>C. parapsilosis</i> ; b) <i>T. delbrueckii</i> ; c) <i>R. rubra</i>	47
22 pav. Apelsininio citrinmedžio (lot. <i>Citrus sinensis</i> L.) EA poveikis <i>F. graminearum</i> grybo augimui	48
23 pav. <i>F. graminearum</i> (FG) mikroskopinio grybo augimas, veikiant apelsininio citrinmedžio EA: a – 125 ppm; b – 250 ppm; c – 500 ppm; d – 1000 ppm; e – 3000 ppm; K – kontrolė	49
24 pav. Antibakterinis Teksaso kedro EA (lot. <i>J. mexicana</i> Schiede.) poveikis bakterijų kultūroms a) <i>S. epidermidis</i> ; b) <i>B. megaterium</i>	50
25 pav. Teksaso kedro (lot. <i>J. mexicana</i> Schiede.) eterinio aliejaus poveikis <i>F. culmorum</i> grybo augimui	51
26 pav. <i>F. culmorum</i> (FC) mikroskopinio grybo augimas, veikiant Teksaso kedro EA: a – 125 ppm; b – 250 ppm; c – 500 ppm; d – 1000 ppm; e – 3000 ppm; K – kontrolė	52
27 pav. Antibakterinis valiklių poveikis <i>M. luteus</i> bakterijų kultūroms a) Apelsino EA + valiklis; b) valiklis be EA	53

Santrumpų sąrašas

dH₂O – distiliuotas vanduo (angl. *distilled water*);

EA – eterinis/iai aliejus/ai (angl. *essential oils*);

MIC – minimali slopinanti koncentracija (angl. *minimal inhibitory concentration*);

PCA – mitybinė agaro terpė (angl. *plate count agar*);

PDA – bulvių dekstrozės agaras (angl. *potato dextrose agar*);

ppm – milijoninė dalis (angl. *part per million*);

PSO – Pasaulio Sveikatos Organizacija (angl. *World Health Organization*, WHO);

sp. – rūšis (angl. *single species*);

spp. – rūšys (angl. *species*);

v.m. – veikliosios medžiagos (angl. *active ingredients*).

Įvadas

Vis didėjantis antibiotikų vartojimas ir netinkamas išmetimas kelia rimtų problemų sveikatos organizacijoms. Patekę į aplinką antibiotikų likučiai gali turėti neigiamą poveikį įvairių mitybos grandinių biotai ir žmonių sveikatai. Per užterštą maistą ir vandenį patekę į organizmą gali sukelti patogenų atsparumo atsiradimą [1]. Sveikatos priežiūros organizacijose mikrobiologinis užterštumas yra labai svarbi problema, kurią reikia nuolat kontroliuoti, kad infekcijų plitimas būtų kuo mažesnis, ypač steriliose patalpose, kuriose atliekami tyrimai, ruošiami vaistai ir atliekamos gydymo procedūros. Daugėjant patogenų, atsparių antibiotikams, išryškėja veiksmingų augalinės kilmės paviršiaus valymo priemonių, kurios būtų saugios pacientams ir darbuotojams, poreikis. Augalinės kilmės valikliai, dažnai pagaminti iš natūralių sudedamųjų dalių, ne tik užtikrina veiksmingą valymą, bet ir kelia mažesnę riziką susirgti kvėpavimo takų ligomis bei odos sudirginimu, kurie dažnai siejami su sintetiniais valikliais [2].

Natūralūs produktai, ypač eteriniai aliejai ir jų sudedamosios dalys, sulaukia vis daugiau dėmesio kaip alternatyva sintetinėms medžiagoms. Dauguma eterinių aliejų pasižymi antiseptinėmis, antimikrobinėmis, antioksidacinėmis savybėmis, taip pat tyrimai rodo, kad eterinių aliejų mišiniai gali veikti sinergiškai su antibiotikais, taip stiprindami jų antibakterinį poveikį. Nors apie eterinius aliejus yra sukaupta daug informacijos, visgi pastebėta, kad eterinių aliejų pagrindu sukurtų valiklių tyrimų atlikta nedaug – tai vis dar nauja ir perspektyvi sritis.

Šiame darbe atlikti biologinio aktyvumo įvertinimo tyrimai su tikrojo pačiulio (lot. *Pogostemon cablin* Benth.), apelsininio citrinmedžio (lot. *Citrus sinensis* L.) ir Teksaso kedro (lot. *Juniperus mexicana* Schiede.) eteriniais aliejais, kaip potencialiomis sudedamosiomis dalimis alternatyvaus valiklio prieš patogenus gamyboje.

Tiriamąo darbo tikslas – naudojant dujų chromatografijos/masių spektrometrijos metodą atlikti įvairių augalų: tikrojo pačiulio (lot. *Pogostemon cablin* Benth.), apelsininio citrinmedžio (lot. *Citrus sinensis* L.) ir Teksaso kedro (lot. *Juniperus mexicana* Schiede.) eterinių aliejų analizę, identifikuoti charakteringus junginius ir įvertinti biologinį aktyvumą. Atrinkus geriausių antimikrobinio poveikio pasižymėjusius eterinius aliejus, pagaminti alternatyvius valiklius ir įvertinti jų biologinį aktyvumą.

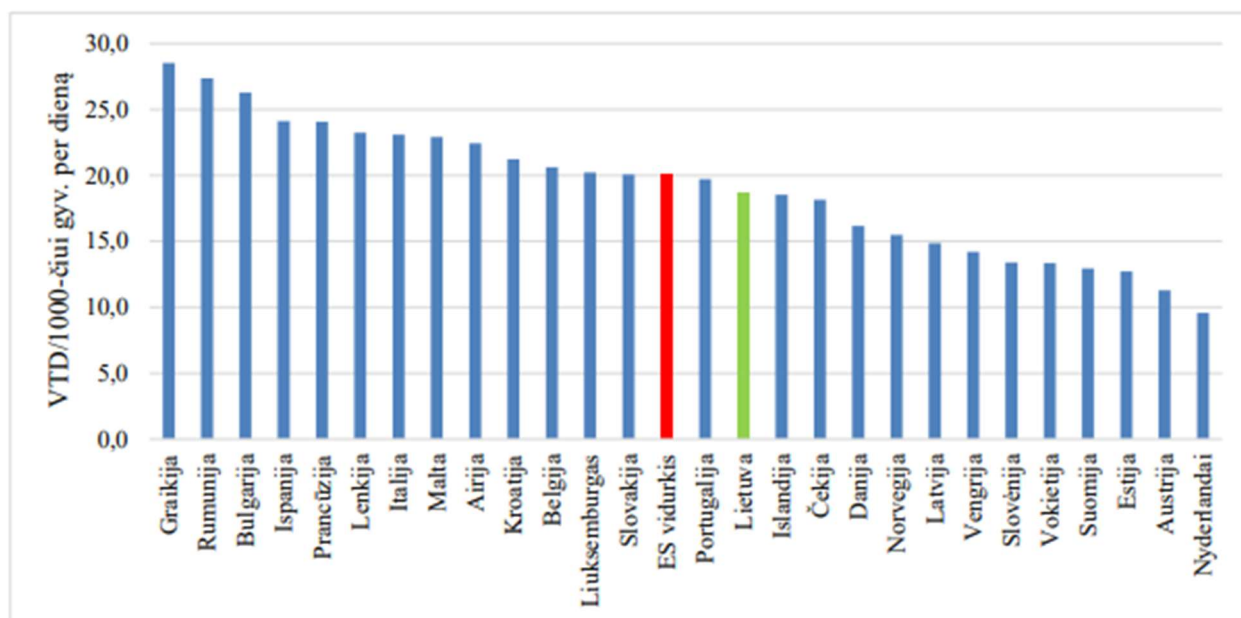
Siekiant darbo tikslo buvo išsikelti šie **uždaviniai**:

1. atlikti išsamią EA analizę naudojantis dujų chromatografijos/masių spektrometrijos metodu (GC-MS), identifikuoti aliejams būdingus junginius;
2. nustatyti EA antioksidacinį aktyvumą naudojant 2,2-difenil-1-pikrilhidrazilas (DPPH) laisvojo radikalo surišimo metodą;
3. įvertinti EA antimikrobinį ir fungicidinį aktyvumą tiriant difuzijos į agarą metodu;
4. įvertinti pagamintų valiklių antimikrobinį ir fungicidinį aktyvumą tiriant difuzijos į agarą metodu.

1. Literatūros apžvalga

1.1. Eterinių aliejų perspektyva medicinoje

Nuolat augantis vartotojų poreikis ir vis didėjantis antibiotikų atsparumas patogenams skatina ieškoti alternatyvų, kuriant produktus tiek kosmetikoje, maisto pramonėje, tiek farmacijoje ar bendrai medicinoje bei kitose srityse. Remiantis naujausiais duomenimis, 2023 metais pasaulinis antibiotikų vartojimas siekė 49,3 milijardo vidutinės terapinės dozės (VTD), tai yra 17 VTD/1000 gyventojų per parą. Nuo 2016 metų iki 2023 metų skaičiuojamas 20,9 % antibiotikų vartojimo padidėjimas. Prognozuojama, kad iki 2030 metų, jeigu nebus imtasi jokių griežtų politinių priemonių suvaldyti vartojimą, pasaulinis antibiotikų vartojimas gali padidėti iki 52,3 % [3]. Higienos instituto parengtoje ataskaitoje 2023 m. bendras sistemškai veikiančių antibakterinių vaistinių preparatų suvartojimas Lietuvoje buvo 18,7 VTD/1000-čiui gyventojų per dieną, t. y. mažesnis už 2023 m. Europos sąjungos vidurkį, kuris yra 20 VTD/1000-čiui gyventojų per dieną (1 pav.). Tačiau Lietuvoje sistemškai veikiančių antibakterinių vaistinių preparatų suvartojimas šiek tiek padidėjo, lyginant su 2022 m. nuo 18,5 iki 18,7 (2023 m.) VTD/1000-čiui gyventojų per dieną ir yra didžiausias per visą 2009-2023 metų stebėjimo laikotarpį [4].



1 pav. Bendras sistemškai veikiančių antibakterinių vaistinių preparatų (J01) suvartojimas Europos šalyse 2023 m. [4]

Svarbu ieškoti alternatyvių sprendimų, nes atsparumas antibiotikams yra opi pasaulinė sveikatos priežiūros ir socioekonominė problema. Pasaulio sveikatos organizacija (PSO) teigia, kad antimikrobinis atsparumas (AMR) yra 1 iš 10 didžiausių pasaulinių grėsmių visuomenės sveikatai, dėl AMR pasekmių kasmet pasaulyje miršta apie 5 mln. žmonių [5]. Didėjant atsparumui antimikrobinėms medžiagoms padidėjo susidomėjimas augalinės kilmės vaistiniais preparatais, įskaitant eterinius aliejus. Eteriniuose aliejuose esantys biologiškai aktyvūs junginiai mikroorganizmus gali veikti įvairiais mechanizmais, pavyzdžiui, pažeisti ląstelės sienelę ar citoplazminę membraną, pažeisti membranos baltymus, slopinti fermentų aktyvumą, padidinti pralaidumą ir t. t. – taip padidinant antibiotikų veiksmingumą kovojant su infekcijomis [6].

Vienas geriausiai žinomų antimikrobinių EA yra arbatmedžio eterinis aliejus, dar žinomas kaip pražangialapė mirtinė (lot. *Melaleuca alternifolia*), pripažintas dėl savo stiprių antiseptinių savybių, taip pat veiksmingas prieš įvairias bakterijas, įskaitant antibiotikams atsparius patogenus. Veiksmingai veikia *Staphylococcus aureus*, *E. coli*, *Streptococcus pyogenes* ir *P. aeruginosa* bakterijas [6]. R. Iseppi [7] atliktame tyrime arbatmedžio aliejus ir rutulinis eukaliptas (lot. *Eucalyptus globulus*) buvo veiksmingi prieš MRSA padermes, todėl gali būti puiki alternatyva įprastam antibiotikui. Šiame tyrime aptariamas sinerginis poveikis tarp EA ir antibiotiko, kas būtų tinkama terapinė priemonė kovojant su MRSA bakterijomis, ir leistų sumažinti reikalingą antibiotiko koncentraciją terapiniam naudojimui [8]. Baziliko ir bergamotės EA tyrimai taip pat parodė stiprų veiksmingumą prieš *S. aureus* patogeną, galvijams sukeliantį mastitą – tyrimas prisidėjo ieškant alternatyvų įprastiems antibiotikams [9].

Bioplėvelės – mikrobų sankaupos, kurios prilimpa prie biologinių ar nebiologinių paviršių. Šis augimo būdas leidžia ląstelėms išgyventi priešiškoje aplinkoje, daugintis ir kolonizuoti naujas nišas [10]. Bakterijos ir mieliagrybiai sudaro bioplėveles ir tampa tolerantiški bei atsparūs antibiotikams ar imuninės sistemos reakcijoms [11]. Pastebėta, kad bakterijų bioplėvelės yra pagrindinė nuolatinių infekcijų priežastis, kai jos ligoninėse ant medicininės įrangos, pavyzdžiui kateterių, protezų ar ventiliacijos angų sudaro sukėlėjų rezervuarą, iš kurio jie plinta ligoninės skyriuose per personalą ir pacientus. Tokiu būdu bioplėvelė silpnina paciento imuninės sistemos reakciją į infekcijos sukėlėją bei formuoja atsparumą antibiotikams [12, 13]. Naudojant EA prietaisų dengimui būtų galima taikyti tikslinį metodą, tiesiogiai nukreiptą į vietą, kurioje įrenginys liečiasi su paciento kūnu. Tokiu būdu būtų užtikrintas maksimalus veiksmingumas ir sumažinta sisteminio šalutinio poveikio galimybė [6]. Citrinžolės (lot. *Cymbopogon citratus*) EA plačiai naudojamas tradicinėje medicinoje bei aromaterapijoje ir yra žinomas dėl antimikrobinių savybių, taip pat buvo tirtas dėl mielių *Candida tropicalis* bioplėvelės susidarymo slopinimo ant skirtingų paviršių. Atliktame tyrime citrinžolės EA parodė gerą potencialą būti naudojamu kaip priešgrybelinė ir *C. tropicalis* bioplėvelės susidarymą ant medicinos prietaisų stabdanti priemonė [14]. *S. aureus* yra viena iš dažniausiai žaizdose aptinkamų bakterijų padermių. K. Hammer'as ir kt. [15] tyrė antibiotikų, arbatmedžio EA ir jo pagrindinio komponento terpinen-4-olio sinergetinį poveikį *Staphylococcus aureus* patogeniui. Šiame tyrime skirtingomis EA koncentracijomis buvo padengtas paviršius ir 0,0001 g tikslumu jautriomis svarstyklėmis stebėtas masės pokytis. Naudojant arbatmedžio EA ir terpinen-4-olį nebuvo nustatytas masės kiekio padidėjimas – tai rodo, kad arbatmedžio aliejus gali būti naudojamas mažinant *S. aureus* sukeltas infekcijas, susijusias su bioplėvelės formavimusi ant kateterių ar kitų medicinos prietaisų. B.G.V. Nova ir kt. [16] atliktame tyrime įvertino arbatmedžio EA, įterpto į hidrogelį, antimikrobinį ir priešuždegiminį poveikį pelėms ir nustatė, kad dėl antimikrobinio poveikio *S. aureus* padermei gelis, turintis arbatmedžio eterinio aliejaus, skatina geresnį žaizdos ploto susitraukimą. Veiksmingai užkirsdami kelią bakterijų prilipimui prie paviršių, bioplėvelės slopinimu pasižymintys antimikrobinių poveikiu eteriniai aliejai, tokie kaip arbatmedžio EA, yra perspektyvi tyrimų sritis – tokius EA galima integruoti į preparatus ar medicinos prietaisus, taip užkertant kelią bakterijų sukeliamoms infekcijoms [6].

1.2. Patogenai

Tiek išsivysčiusiose, tiek besivystančiose šalyse mikroorganizmai gali sukelti problemų įvairiose aplinkose – sukeliamos su maistu susijusios infekcinės ligos ir apsinuodijimų protrūkiai kelia nemenkus iššūkius sveikatos priežiūros institucijoms. Nesaugūs maisto produktai, kuriuose yra patogeninių bakterijų, virusų, parazitų, mikroskopinių grybų ar toksinų, sukelia daugiau nei 200 ligų.

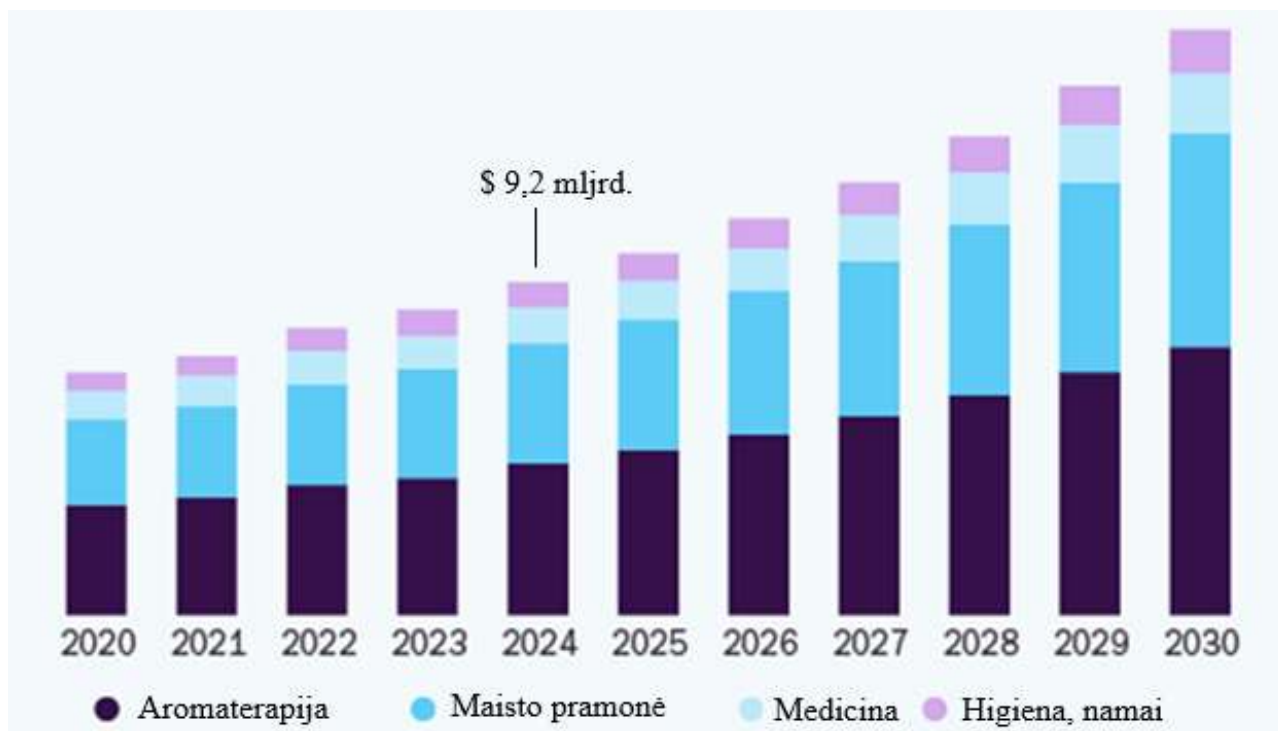
PSO svetainėje skelbiama, kad kasmet 600 mln. (maždaug 1 iš 10 gyventojų) žmonių suserga po nesaugaus maisto vartojimo, o 420 tūkst. atvejų baigiasi mirtimi [17]. Maisto užteršimas patogenais gali įvykti bet kuriame maisto tiekimo grandinės etape – nuo žaliavų auginimo iki galutinio paruošimo vartojimui. Pavyzdžiui, patogeninė enterohemoraginė *E. coli* (EHEC) sukelia ešerichiozę, *Listeria spp.* sukelia listeriozę, pasireiškiančią meningitu – abu šie patogenai dažniausiai siejami su nepasterizuotu pienu, gyvūninės kilmės maistu. *Salmonella spp.* yra dažnai randama žaliuose ar nepakankamai termiškai apdorotuose gyvūninės kilmės produktuose, tokiuose kaip paukštiena, kiaušiniai ar nepasterizuotas pienas, dėl ko žmonės neretai susiduria su salmonelioze, kurią dažniausiai sukelia *S. enteritidis* (67,3 %) ir *S. typhimurium* (13,1 %) [17, 18]. *Fusarium spp.* grybai, kurie dažnai užteršia grūdinius augalus, tokius kaip javai, kviečiai, kukurūzai ir avižos, ir gamina įvairius mikotoksinus, pavyzdžiui, trichotecenus, kurie gali būti labai toksiški žmonėms, sukelti greitą odos ar žarnyno gleivinės dirginimą ir viduriavimą [19].

Patogenai gali užkrėsti žmogaus organizmą ir kontaktiniu, oro lašeliniu būdu. *S. aureus* randama ir aplinkoje, ir normalioje žmogaus floroje ant odos ar gleivinės membranų, ant sveikų individų paprastai infekcijos nesukelia, tačiau gali būti ir žmogaus patogenas – patekusi į žmogaus kraujotaką ar vidinius audinius gali sukelti rimtas infekcijas. *Cladosporium spp.*, *Penicillium spp.*, *Aspergillus spp.*, *Alternaria spp.* plinta per orą, išskirdami sporas, kurios gali būti įkvėpiamos, taip sukeliant alergines reakcijas, plaučių infekciją [20].

Patogenai gali būti perduodami ir per užterštus paviršius, pavyzdžiui, *L. monocytogenes* gali išgyventi ant įvairių paviršių, įskaitant metalą, stiklą ir plastiką, ir sukelti infekcijas, ypač rizikos grupėms priklausantiems asmenims [21]. Mikroorganizmai gali išgyventi keletą dienų ir mėnesių ant drėgnų ir ant sausų paviršių. Ligoninės aplinka, ypač medicinos prietaisai ir paviršiai, yra antrinis patogenų rezervuaras, jie gali būti užteršti nuo pacientų, slaugytojų rankų ir t. t. [22]. Bakterijų prisitvirtinimas ir bioplėvelių formavimasis ant medicinos prietaisų plačiai pripažįstami kaip viena pagrindinių su mediciniais implantais susijusių infekcijų, priežastis [6]. Ligoninių paviršiuose rasta daug patogeninių mikroorganizmų rūšių, įskaitant *Clostridium difficile*, *Klebsiella sp.*, *S. aureus* ir *Acinetobacter baumannii* [22]. S. Jaouhar ir kt. [22] tyrė Maroko ligoninės paviršių ir medicinos įrangos mikrobiologinę kokybę, kur buvo nustatyta, kad 68 % viso paviršiaus buvo užteršta patogenais. Bakterijų identifikavimas parodė, kad tai buvo *Staphylococcus spp.*, *Enterobacter cloacae*, *Micrococcus sp.*, *K. pneumoniae*, *Peptostreptococcus sp.*, *P. fluorescens*, *E. coli* ir meticilinui atsparūs *S. aureus* (MRSA).

1.3. Eterinių aliejų savybės ir panaudojimas

Eteriniai aliejai – natūralūs antrinio metabolizmo junginiai, išgaunami iš augalų, nuo seno vertinami dėl savo aromatinių ar gydomųjų savybių. Pastaruoju metu pasaulinė prekyba eteriniais aliejais labai išsiplėtė dėl didėjančios vartotojų paklausos natūraliems produktams kosmetikos, asmens priežiūros, aromaterapijos, farmacijos ar maisto pramonės srityse. Pastaraisiais metais pasaulinė eterinių aliejų rinka labai išaugo (2 pav.). Pasaulinės eterinių aliejų rinkos dydis 2023 m. siekė 23,74 mlrd. JAV dolerių, o nuo 2024 m. iki 2030 m. tikimasi 7,6 % metinio augimo tempo (angl. *compound annual growth rate* (CAGR)) [23].



2 pav. Pasaulinis metinis eterinių aliejų rinkos didėjimas skirtingose šakose [24]

Iš augalų išgaunami junginiai netirpūs vandenyje – lakūs, todėl veikiami oro greitai garuoja, tačiau puikiai tirpstantys alkoholiuose, eteriuose, benzene, aliejuje ir kt. [25]. Tai dažniausiai skystos medžiagos (nors kai kurie eteriniai aliejai pasižymi ir kietosiomis dalimis), daugiausia sudarytos iš terpenų, aldehydų, ketonų ir kt. Eteriniai aliejai yra bespalviai, šviesiai gelsvos spalvos arba šiek tiek rečiau – ryškesnių spalvų, pvz., vaistinių ramunių eterinis aliejus yra mėlynas, bergamočių – žalsvas, o pelyno – rudas. Visi EA pasižymi specifiniu kvapu, aitriu deginančiu skoniu [26]. Augalų eterinių aliejų cheminė sudėtis skiriasi priklausomai nuo augalų rūšies ir jų geografinės padėties, aplinkos ir brandimo laiko, taip pat nuo eterinio aliejaus išgavimo būdo [27].

Eteriniai aliejai turi daug naudos sveikatai, pasižymi plačiu biologiniu aktyvumu, visų pirma dėl savo antimikrobinių, priešuždegiminių savybių ir antioksidacinių savybių [28]. Dėl šių savybių eteriniai aliejai plačiai naudojami įvairiose srityse. Medicinoje jie taikomi kaip natūralūs antiseptikai ir priešuždegiminiai agentai; maisto pramonėje – kaip natūralūs konservantai, galintys prailginti produktų galiojimo laiką; žemės ūkyje – kaip natūralūs pesticidai; kosmetikos ir parfumerijos pramonėje – dėl jų malonaus aromato ir odą puoselėjančių savybių.

1.3.1. Tikrojo pačiulio (lot. *Pogostemon cablin* Benth.) eterinis aliejus

Pačiulis, priklausantis notrelinių (lot. *Lamiaceae*) šeimai, yra daugiametis krūminis augalas, užaugantis iki 1–1,5 metro aukščio, lapai yra apie 7–10 cm ilgio, ovalios formos, odiški, dantytai kraštais [29]. Augalas turi mažus šviesiai rausvai baltus žiedus. Pačiulis – atogrąžų augalų rūšis, tačiau juos galima auginti ir subtropinėse klimato juostose, šiuo metu plačiai auginamas Malaizijoje, Indonezijoje, Filipinuose, Kinijoje bei Brazilijoje. Daugiausiai eterinio aliejaus augalas kaupia lapuose, mėgsta karštą ir drėgną orą, jo augimui reikalinga 80–90 % santykinė oro drėgmė, 20–35 °C temperatūra [30, 31, 32]. Pačiulio EA apibūdinamas kaip tamsiai oranžinis ar rudas klampus skystis, turintis unikalų medienos kvapą, ir yra nepakeičiama daugelio moteriškų ir vyriškų kvėpalų ar kitų kosmetikos priemonių sudedamoji dalis. Jis naudojamas aromaterapijoje dėl raminamojo poveikio.

Taip pat, kaip vaistažolė naudojamas tradicinėje kinų medicinoje virškinimo trakto negalavimams, pavyzdžiui, žarnyno uždegimui ar skrandžio opoms, gydyti [33]. Iki klinikiniuose tyrimuose su gyvūnais nustatyta, kad pačiulio EA turi potencialo palengvinti chemoterapijos sukeltą žarnyno gleivinės uždegimą reguliuojant vandens pasiskirstymą žarnyne [34]. Pačiulio EA gali būti naudojamas kaip antiseptikas, turi žaizdą sutraukiančių savybių, nes stimuliuoja odos ir nervų audinių susitraukimą [30]. Pačiulio EA plačiai naudojamas kaip botaninis insekticidas, repelentas ir antimikrobinis preparatas, taip pat pasižymi priešuždegiminėmis ir priešvėžinėmis savybėmis [35].

Pačiulio eterinis aliejus, priklausomai nuo surinkimo vietos, derlingumo bei temperatūros, turi skirtingą cheminę sudėtį. Cheminiai skirtumai gali atsirasti dėl džiovinimo ar distiliavimo procesų, kurie gali turėti įtakos pogostono koncentracijai EA. S. Zahra ir kt. [30] teigia, kad labiausiai paplitę EA komponentai skiriasi savo koncentracija aliejuje, todėl buvo surinkta informacija iš 75 mokslinių straipsnių, o atlikta analizė leido pateikti EA pagrindines sudedamąsias dalis vidutinėmis procentinėmis dalimis ir intervalais (žr. 1 lentelę). Pačiulio eteriniame aliejuje gausu seskviterpenų, tokių kaip pačiulenas, kariofilenas, pogostonas, pogostolis ir didžiausia koncentracija pačiulolio, kuris dar žinomas kaip pačiulio alkoholis. Pačiulio alkoholis ir pačiulenas yra pagrindinės sudedamosios dalys, kurios lemia EA kokybę ir aromatą. Pačiulio alkoholis pasižymi farmakologinėmis savybėmis, tokiomis kaip antioksidacinis, priešuždegiminis, antimikrobinis ir priešvėžinis poveikis [36]. Nustatyta, kad pačiulio alkoholis mažina storosios žarnos lygiųjų raumenų susitraukimus. Taip pat yra tyrimų, kad jis, veikdamas kaip kalcio jonų antagonistas, sukelia kraujagyslių atsipalaidavimą, o tai pasireiškia kraujospūdį mažinančiu poveikiu [30]. α -Bulnesenas pasižymi stipriu trombocitų agregacijos slopinamuoju poveikiu, o tai mažina širdies ir kraujagyslių ligų riziką [37].

Ne tik *P. cablin* EA, bet ir jo pagrindinių komponentų, tokių kaip pačiulio alkoholio ir pogostono, antimikrobinis poveikis įrodytas prieš įvairias gramneigiamas bakterijas, tokias kaip: *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Bacillus proteus*, *Shigella dysenteriae*, *Typhoid bacillus* ir gramteigiamas bakterijas *S. aureus* [38]. Pačiulio alkoholis pasižymi selektyviu antibakteriniu poveikiu prieš žarnyno bakteriją *Helicobacter pylori*, išskirtą iš paprastų naminių driežų išmatų [39]. Mokslininkų atlikti tyrimai su pogostonu parodė jo stiprų aktyvumą prieš *Candida albicans* izoliatus [40]. *P. cablin* EA pasižymi fungicidiniu aktyvumu prieš *Aspergillus sp.* genties izolatus. L.A. Luchesi ir kt. [41] atlikto tyrimo su *F. graminearum* metu nustatė, kad reikšmingas slopinimas buvo po 48 val. esant 8,0 μ l/ml *P. cablin* EA koncentracijai. Tai palyginta su vaisto klotrimazolo fungicidiniu poveikiu *F. graminearum*, kai klotrimazolo koncentracija buvo 12 μ g/ml – t.y. šiek tiek didesnė, o tai rodo eterinio aliejaus didesnę potencialą. Tokį fungicidinį poveikį galėjo atspindėti pačiulio alkoholis, tačiau neatmetama, kad mažesnės koncentracijos junginiai taip pat galėjo prisidėti prie fungicidinio poveikio.

P. Ruamdee ir kt. [42] nustatė ir palygino *P. cablin* EA, etanolinio ir vandeninio ekstraktų antioksidacinį aktyvumą. Tyrimas, atliktas naudojant (DPPH) laisvojo radikalo surišimo metodą, parodė, kad didžiausią antioksidacinį aktyvumą turi etanolinis ekstraktas $IC_{50} = 18 \pm 0,90$ μ g/ml, mažesnę – vandeninis ekstraktas, o, kaip teigiama, kontrolė buvo butilintas hidroksitoluenas (BHT).

1 lentelė. Pačiulio eterinio aliejaus pagrindinės sudedamosios dalys [30]

Sudedamosios dalies pavadinimas	Vidurkis, %	Intervalai, %
Patchoulol	39	11–72
α -Bulnesene	14	2,9–23
α -Guaiene	11	2,9–23
Pogostone	8,9	0,1–27,7
Seychellene	6,6	2,3–13
α -Patchoulene	4,5	1,2–13
(E)- β -Caryophyllene	3,1	0,75–6,8
β -Patchoulene	3,0	0,03–12
Aciphyllene	2,4	0,7–4,2
Pogostol	2,4	0,2–6,2
β -Elemene	0,89	0,18–1,9
Norpatchoulenol	0,86	0,11–4,0
Caryophyllene oxide	0,73	0,0–4,6
α -Humulene	0,69	0,05–2
δ -Elemene	0,52	0,01–1,9
Cycloseychellene	0,46	0,02–0,8
β -Pinene	0,20	0,02–1
Germacrene D	0,12	0,0–0,2
α -Pinene	0,09	0,01–0,3
Limonene	0,03	0,01–0,3

1.3.2. Apelsininio citrinmedžio (lot. *Citrus sinensis* L.) eterinis aliejus

Apelsininis citrinmedis, priklausantis rūtinių (lot. *Rutaceae*) šeimos citrinmedžių (lot. *Citrus*) genčiai, auga tropiniuose, pusiau tropiniuose ir šiltuose vidutinio klimato regionuose ir yra labiausiai pasaulyje auginamas citrusinių vaisių medis. *C. sinensis* yra daugiametis žydintis medis, kuris paprastai užauga iki 7,5 m aukščio, bet gali pasiekti ir 15 m aukštį. Lapai lygūs, ovalo arba elipsės formos, tamsiai žali, 6,5–15 cm ilgio, žiedai maži, balti, kvapnūs. Augalas formuoja vaisių, kuris vadinamas tikroju apelsinu, būna apvalus, žalias, o pilnai subrendęs – oranžinis. Tiek lapai, tiek augalo vaisiai aromatingi ir kaupia eterinius aliejus. Išorinis apelsino žievelės paviršius vadinamas *flavedo*, kuris kaupia įvairius eterinius aliejus, jo pagrindinė sudedamoji dalis yra monoterpenas limonenas. Limonenas, terpenų šeimos angliavandenilis, turi chiralinį centrą ir gamtoje randamas kaip du enantiomerai – (R)- ir (S)-limonenas. Izomeras (R)- turi charakteringą apelsinų kvapą ir apelsinų eteriniame aliejuje sudaro iki 95 %, o (S)-limoneno kvapas primena citrinas. Apelsinų eterinis aliejus turi daugybę pritaikymų įvairiose srityse, pavyzdžiui, aromaterapijoje. Maisto pramonėje apelsinų EA naudojamas kaip fungicidinis agentas, siekiant išvengti paruošto maisto ar derliaus (žaliavų) gedimo transportavimo metu. Dėl aromatinių savybių naudojamas kosmetikos ir valymo priemonėse. Farmacijoje naudojamas dėl prevencinių savybių, padedančių išvengti tam tikrų ligų, virusinių infekcijų, uždegimų [43]. Limonenas pasižymi natūraliomis repelentinėmis savybėmis,

palyginti mažai toksiškas, jei vartojamas per burną, tačiau didelės limonenas koncentracijos dirgina odą ir gali sukelti odos jautrumą [44].

Eteriniai aliejai ir ekstraktai iš *C. sinensis* žievelių pasižymi antimikrobinu poveikiu. *C. sinensis* pasižymi antibakteriniu poveikiu prieš *Colletotrichum capsici*, stipresniu poveikiu prieš *Klebsiella pneumoniae* ir *Bacillus cereus* [45]. Limoneno, kaip gyno komponento savybės yra gerai ištirtos. Tyrimais nustatyta, kad grynas limonenas, esant EA 1000 µl/l koncentracijai, slopino *Salmonella senftenberg*, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* ir *Pseudomonas sp.* rūšių augimą [46]. Pastebėta, kad antibakterinis veiksmingumas yra susijęs su lipofilinėmis savybėmis, todėl dėl ląstelių sudėties skirtumų gramteigiamas bakterijas šis aliejus veikia labiau, nei gramneigiamas [43]. *C. sinensis* pasižymi antimikoziniu aktyvumu prieš *Candida albicans*, *Alternaria sp.* ir *Aspergillus sp.* mikroskopinių grybų augimą [45, 47, 48].

Ankstesni tyrimai parodė, kad citrusiniuose vaisiuose yra daugiau kaip 170 antioksidantų, įskaitant vitaminus, fenolinius junginius ir mineralines medžiagas. Įvairūs biologiškai aktyvūs junginiai kontroliuoja oksidacinį stresą ir uždegimą bei palaiko imuninę atsaką. Iš citrusinių vaisių išskirtas limonenas turi priešuždegiminių, antioksidacinių ir priešvėžinių savybių. J. Yang'as ir kt. [49] tyrė iš vaisių žievelių gauto *Citrus sinensis* EA antioksidacines savybes, fenolinių junginių kiekį ir lygino šias savybes su 21 citrinmedžio genties kultūrų EA savybėmis. Visos tirtos citrinmedžių genties kultūros pasižymėjo skirtingomis DPPH radikalo slopinimo savybėmis, tačiau *C. sinensis* pasižymėjo vidutiniu slopinimo aktyvumu $IC_{50} = 333,29 \pm 48,96$ mg/ml, kaip kontrolė buvo naudojama askorbo rūgštis ($IC_{50} = 0,01 \pm 0,00$ mg/ml). EA fenolinių junginių koncentracija buvo matuojama Folino – Kiokalto metodu ir išreikšta galo rūgšties ekvivalentais. Lyginant su kitomis citrinmedžių kultūromis paskaičiuota, kad *C. sinensis* fenolinių junginių koncentracija nebuvo didelė $265,19 \pm 14,29$ mg GAE/100 g. Tyrimo metu buvo atsižvelgta į dominuojančią limoneno koncentraciją eteriniuose aliejuose, tačiau šio tyrimo metu limonenas neturėjo reikšmingo poveikio antioksidaciniam aktyvumui. Monoterpenas tujenas pasižymi geru antioksidaciniu poveikiu dėl savo gebėjimo efektyviai slopinti singletinį deguonį. Alkoholio junginiai, pvz. karveolis, ketonai, pvz. karvonas ir aldehidai, esteriai, pvz. citranelilacetatas, geranilacetatas, nerilacetatas, pasižymi geromis antioksidacinėmis savybėmis [50]. Eteriniai aliejai, kuriuose gausu tujeno, β-pineno, γ-terpineno ir terpinoleneno pasižymi stipresnėmis antioksidacinėmis savybėmis [51]. Neatmetama, kad sinerginis poveikis tarp sudėtyje esančių biologiškai aktyvių junginių gali turėti įtakos antioksidaciniam EA poveikiui [43].

1.3.3. Teksaso kedro (lot. *Juniperus mexicana* Schiede) eterinis aliejus

Teksaso kedras (lot. *Juniperus mexicana* Schiede), kitaip dar moksliniuose šaltiniuose aprašomas kaip balkšvasis kadagys (lot. *Juniperus ashei* J.T. Buchholz), yra vadinamas kedru, tačiau taksonomiškai priklauso kadagių (lot. *Juniperus*) genčiai ir kiparisinių (lot. *Cupressaceae*) šeimai. *J. mexicana* EA yra išgaunamas iš medienos. Šis augalas yra paplitęs pietvakarių Šiaurės Amerikoje, daugiausiai Teksaso dalyje. Eterinis aliejus yra šviesiai rudos, rausvos spalvos, klampus, pasižymi maloni medienos kvapu [52]. Dažniausiai bendri kadagių eteriniuose aliejuose randami komponentai yra seskviterpenai angliavandeniliai, įskaitant cedrolą, α-cedreną, cedrenolį, cedrolą, kupareną, tujopseną ir vidrolą, tačiau jų santykinė koncentracija gali skirtis priklausomai nuo kedro medžio augavietės ir konkrečios rūšies. Tarptautinė standartizacijos organizacija nustatė *J. mexicana* pagrindinių sudedamųjų dalių minimalias ir maksimalias koncentracijas. Jos pateikiamos 2 lentelėje [53].

2 lentelė. Kedro eterinio aliejaus pagrindinės sudedamosios dalys [53]

Sudedamosios dalies pavadinimas	Intervalai, %
α -Cedrene	15–25
β -Cedrene	3–8
Thujopsene	25–35
Cuparene	1,5–3,2
Cedrol	nuo 20
Widdrol	nuo 2,5

J. Wanner'is ir kt. [54] tyrė *J. ashei* EA antimikrobinį aktyvumą prieš keletą klinikinių ir maisto produktuose izoliuotų gramneigiamų (*Citrobacter diversus*, *E. coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *P. fluorescens* ir *Salmonella abony*) bei gramteigiamų (*Bacillus cereus*, *S. aureus* ir *S. epidermis*) bakterijų. Tyrimo metu nustatyta, kad *J. ashei* slopino gramteigiamas bakterijas, gramneigiamų bakterijų slopinimas buvo silpnas, o *Pseudomonas* rūšių augimo visai neslopino. *J. ashei* EA ir ekstraktai pasižymi dideliu fungicidiniu poveikiu prieš *Postia placenta*, *Gloeophyllum trabeum*, *Trametes versicolor* ir *Irpex lacteus* puvimo grybus. Galimai didelė cedrolo ir tujopseno junginių koncentracija daro didžiausią įtaką šio EA fungicidiniui aktyvumui, tačiau neatmetama, kad tai gali būti ir sinerginis poveikis dėl EA sudėtyje esančių kitų junginių [55]. Skirtingų koncentracijų pagrindinio komponento tujopseno fungicidinis poveikis tirtas prieš *Aspergillus sydowii*, *Eurotium herbariorum*, *Gonytrichum macrocladum*, *Penicillium hirsutum* ir *P. decumbens*, o kaip kontrolė naudotas eugenolis, nes įvairiuose tyrimuose yra įrodytas jo fungicidinis poveikis prieš tam tikras grybų padermes. Iš visų išbandytų tujopseno koncentracijų veiksmingiausia visoms grybų rūšims buvo 80 % koncentracija, nors kai kuriais atvejais skirtumas tarp 80 % ir 50 % slopinimo nebuvo statistiškai reikšmingas [56].

Ankstesniuose tyrimuose teigiama, kad *J. ashei* turi geriausią antioksidacinį poveikį ir didžiausią bendrą fenolinių junginių koncentraciją iš visų kadagių (lot. *Juniperus*) genties atstovų. M. Olech ir kt. [57] tyrimo metu nustatė, kad *J. ashei* antioksidacinis aktyvumas ($IC_{50} = 49 \pm 1 \mu\text{g/ml}$) ir bendra fenolinių junginių koncentracija ($263 \pm 25 \text{ mg GAE/g}$), tirti DPPH ir Folino – Kiokalto metodais, lyginant su kitomis rūšimis yra didžiausia. Pateikiamas fenolinių junginių koncentracijos palyginimas tarp rūšių:

J. ashei J. Buchholz > *J. pinchotii* Sudw. $\approx$ *J. communis* Laxa $\geq$ *J. formosana* Hayata.

1.4. Augalinės kilmės valikliai

Šiais laikais, kai aplinkosauga yra ypač svarbi, vis intensyviau ieškoma veiksmingų ir tvarių valymo sprendimų. Įprastiniai valymo produktai, kuriuose dažnai būna stiprių cheminių medžiagų, kelia pavojų ne tik žmonių sveikatai, bet ir ekosistemai. Dažnas cheminių valiklių ar dezinfekcinių skysčių naudojimas uždaroje patalpoje gali sukelti sudėtingus cheminius procesus, dėl kurių į patalpų aplinką patenka reaktyvūs tarpiniai junginiai ar šalutiniai produktai. Nuolatinis šių produktų poveikis gali kelti šalutinio poveikio žmogaus sveikatai riziką [58]. Dėl savo sudedamųjų dalių ir galimo antimikrobinio poveikio nemažai dėmesio sulaukė augalinės kilmės paviršių valikliai. Augalinės kilmės valiklių sudedamosios dalys yra biologiškai suyrančios ir netoksiškos, todėl yra saugesnis pasirinkimas, kurį galima reguliariai naudoti namų ūkiuose, mokyklose ir sveikatos priežiūros įstaigose. Šių valiklių pagrindą sudaro augalinės kilmės veikliosios medžiagos, tarp kurių gali būti paviršinio aktyvumo medžiagų, gaunamų iš aliejų ar krakmolo [2]. D. Sateriale ir kt. [58] tyrė

čiobrelių EA veiksmingumą gerinant patalpų oro mikrobiologinę kokybę ir paviršių higieną. Tyrimo metu buvo atlikta gryno čiobrelio EA ir dviejų dezinfekavimo tirpalų su EA antimikrobiniai tyrimai. Skirtingų paviršių dezinfekavimui buvo naudojami čiobrelių 2,5 % ir 5 % vandeniniai tirpalai, kaip kontrolė naudotas įprastas laboratorinių paviršių valiklis NaClO 3 %. Rezultatai parodė, kad 2,5 % čiobrelių valiklis pasižymėjo stipriu antimikrobinio slopinimu ant paviršių, ypač ant tirtų lygių paviršių, tokių kaip nerūdijantis plienas, o 5 % valiklis pasižymėjo visišku slopinimu mikroorganizmams. Labai panašiu principu analizuotas kvapiosios murėjos (lot. *Murraya koenigii*) poveikis augaliniame paviršių valiklyje. Tyrime nustatyta, kad kvapiosios murėjos valiklis slopino *Staphylococcus sp.* bakterijas labiau, nei tyrime tirtas gramneigiamas bakterijas [59]. Dėl netinkamos įrangos dezinfekcijos ir atsirandančio atsparumo *Salmonella enterica* bakterijoms maisto pramonėje ieškota augalinės kilmės dezinfekcijos pakaitalo. C. Valeriano ir kt. [60] mokslininkų tyrime pateikiamas dezinfekuojantis tirpalas, sudarytas iš NaOH 1 %, Tween 80 ir EA – pipirmėčių (lot. *Mentha piperita*) ir citrinžolės (lot. *Cymbopogon citratus*). Šio tyrimo metu nustatyta, kad šie EA galėtų būti patogi ir kokybiška alternatyva tradiciniams valikliams.

1.4.1. Paviršinio aktyvumo medžiagos

Iš esmės EA nėra tirpūs vandenyje, todėl analizuojant literatūrą nesunku pastebėti, kad augalinės kilmės valikliai gaminami kartu su paviršinio aktyvumo medžiagomis – surfaktantais. Surfaktantai yra amfifilinės molekulės. Tokios molekulės turi hidrofilinę „galvos“, tirpią vandenyje, ir lipofilinę „uodegos“, tirpią lipiduose, dalis. Dėl šios priežasties EA yra tirpdomi, aliejaus lašeliai apgaubiami surfaktanto molekulėmis. Surfaktantai yra skirstomi į joninius ir nejoninius. Joniniai surfaktantai skirstomi į anijoninius, katijoninius ir amfoterinius. Šių surfaktantų prigimtis lemia emulsijų stabilumą [61].

Nejoniniai surfaktantai sumažina skysčio paviršiaus įtempimą ir neturi jokio krūvio. Nejoninių surfaktantų pavyzdžiai – polisorbatai, koko gliukozidas. Koko gliukozidas gaminamas iš atsinaujinančių žaliavų, nealergizuojantis ir yra lengvai biologiškai skaidomas, tirpus vandenyje, suderinamas su kitų rūšių PAM, naudojamas kosmetikoje, pasižymi putojimu ir drėkinimo efektu. Dėl savo geros emulsavimo savybės maišant vandenį ir riebalus puikiai tinka paviršių valiklių gamyboje.

Anijoniniai surfaktantai turi neigiamą krūvį, pasižymi dideliu putojimu. Anijoninių surfaktantų pavyzdys – natrio laurilo eterio sulfatas (SLES). Natrio laurilo eterio sulfatas yra organinis junginys, kuris pagamintas pagrinde iš natūralios kilmės ingredientų, labai gerai tirpsta kietam vandenyje, pasižymi geru putojimu ir valymo savybėmis bei sinerginiu poveikiu su nejoninėmis ir amfoterinėmis PAM [62].

Katijoniniai surfaktantai turi teigiamą krūvį, paprastai juos sudaro amoniako junginiai, plačiai naudojami sterilizavimui. Katijoninių surfaktantų pavyzdys – benzalkonio chloridas. Benzalkonio chloridas – organinė druska, naudojama kaip biocidas, PAM ir fazių perdavimo agentas. Didelėmis koncentracijomis naudojamas dezinfekciniuose produktuose.

Amfoteriniai surfaktantai turi ir teigiamą, ir neigiamą krūvius, pasižymi mažu toksiškumu, švelnumo savybėmis, todėl naudojami šampūnuose, minkštikliuose ir t. t. Amfoterinio surfaktanto pavyzdys – kokamino oksidai. Kokamino oksidai, kitaip dar vadinami lauramino oksidais, pasižymi stipriu poliškumu, todėl pasižymi geromis emulsavimo savybėmis, kosmetikoje naudojami kaip tirštikliai ar drėkikliai [63].

1.5. Literatūros apžvalgos apibendrinimas

Be perstojo augantis vartotojų poreikis ir vis didėjantis antibiotikų atsparumas patogenams skatina ieškoti alternatyvų kuriant produktus tiek maisto pramonėje, tiek farmacijoje bei kitose srityse. Didėjant atsparumui antimikrobinėms medžiagoms didėja susidomėjimas augalinės kilmės vaistiniais preparatais, įskaitant eterinius aliejus. Bakterijos ir mieliagrybiai formuoja bioplėveles, kurios lemia jų toleranciją ir atsparumą antibiotikams bei imuninės sistemos reakcijoms. Aptarta, kad bakterijų bioplėvelės yra viena pagrindinių nuolatinių infekcijų priežasčių, ypač gydymo įstaigose, kur jos susiformuoja ant medicininės įrangos ir ventiliacijos angų, sudarydamos sukėlėjų rezervuarus. Iš jų patogenai plinta ligoninės skyriuose per personalą ir pacientus. Didžioji dalis infekcinių susirgimų kyla patogenams patenkant su maistu, kontaktiniu, oro lašeliniu būdu arba per užterštus paviršius. Trumpai aptarti dažniausiai pasitaikančių patogenų perdavimo keliai ir jų savybės.

Įprastiniai valymo produktai, kuriuose dažnai būna stiprių cheminių medžiagų, kelia pavojų ne tik žmonių sveikatai, bet ir ekosistemai. Trumpai apžvelgiami naujausi tyrimai, atlikti kuriant ir analizuojant eterinių aliejų perspektyvą natūraliuose valikliuose, atsižvelgiama į eterinio aliejaus tirpumo galimybes ir pateikiamos paviršinio aktyvumo medžiagos, galinčios padėti eterinių aliejų tirpumui. Trumpai aptariami tiriami eteriniai aliejai, jų savybės, antioksidacinės ir antimikrobinės savybės.

2. Medžiagos ir tyrimų metodai

2.1. Tyrimų objektas

Tyrimai vykdyti su trimis komerciniais eteriniais aliejais:

- tikrojo pačiulio (lot. *Pogostemon cablin* Benth.);
- apelsininio citrinmedžio (lot. *Citrus sinensis* L.);
- Teksaso kedro (lot. *Juniperus mexicana* Schiede.).

Atlikti tyrimai su pagamintais valikliais:

- pačiulio EA + valiklis;
- apelsino EA + valiklis;
- pačiulio EA + apelsino EA + valiklis.

Tirtas EA ir valiklio antimikrobinis poveikis prieš 22 mikroorganizmus.

11 bakterijų kultūrų:

- *Micrococcus luteus* ATCC 4698;
- *Enterobacter cloacae* ATCC 23355 13047;
- *Staphylococcus epidermidis* ATCC 12228;
- *Bacillus subtilis* subsp. *spizizenii* ATCC 6633;
- *Salmonella choleraesuis* ATCC 10708;
- *Escherichia coli* ATCC 11775;
- *Salmonella agona* ATCC 700720;
- *Listeria monocytogenes* ATCC 13932;
- *Staphylococcus aureus* ATCC 25923;
- *Salmonella typhimurium* ATCC 14028;
- *Bacillus megaterium* ATCC 14581.

5 mielių kultūras:

- *Rhodotorula rubra*;
- *Torulaspora delbrueckii*;
- *Pichia kluyveri*;
- *Debaryomyces hansenii*;
- *Candida parapsilosis*.

6 mikroskopinių grybų kultūras:

- *Fusarium graminearum*;
- *Fusarium culmorum*;
- *Fusarium solani*;
- *Sclerotinia sclerotiorum*;
- *Acremonium* sp.;
- *Alternaria alternata*.

2.2. Laboratorinės priemonės ir įranga

Kokybinei ir kiekybinei EA sudėčiai nustatyti naudoti:

- dujų chromatografas su liepsnos jonizacijos detektoriumi (GC–FID);

- masių spektrometras su laiko skriejimo masių analizatoriumi (GC – TOF/MS).

Antimikrobinio aktyvumo tyrimams naudotos terpės:

- bulvių dekstrozės agaras (angl. *potato dextrose agar* (PDA), Liofilhem, It.) – mielių ir mikroskopinių grybų auginimui;
- mitybos agaras (angl. *plate count agar* (PCA), Liofilhem, It.) – bakterijų auginimui.

Sėjimams naudotos sterilios *Petri* lėkštelės 90 mm skersmens; automatinės pipetės 10–100 μ l ir 100–1000 μ l; sterilūs vienkartiniai antgaliai pipetėms 2–200 μ l, 100–1000 μ l; stikliniai laboratoriniai indai; termostatai, palaikantys 25 ± 2 °C ir 37 ± 2 °C temperatūrą; autoklavas.

Valiklio gamybai naudotos priemonės:

- natrio laurilo eterio sulfatas (SLES) 70% (Leurochem, Lietuva);
- koko gliukozidas 50% (Leurochem, Lietuva);
- dH₂O;
- eteriniai aliejai (pačiulio EA, apelsinų EA).

2.3. Eterinių aliejų chemotipų nustatymas

Šių tyrimų metu nustatytas tikrojo pačiulio, apelsininio citrinmedžio ir Teksaso kedro EA chemotipas.

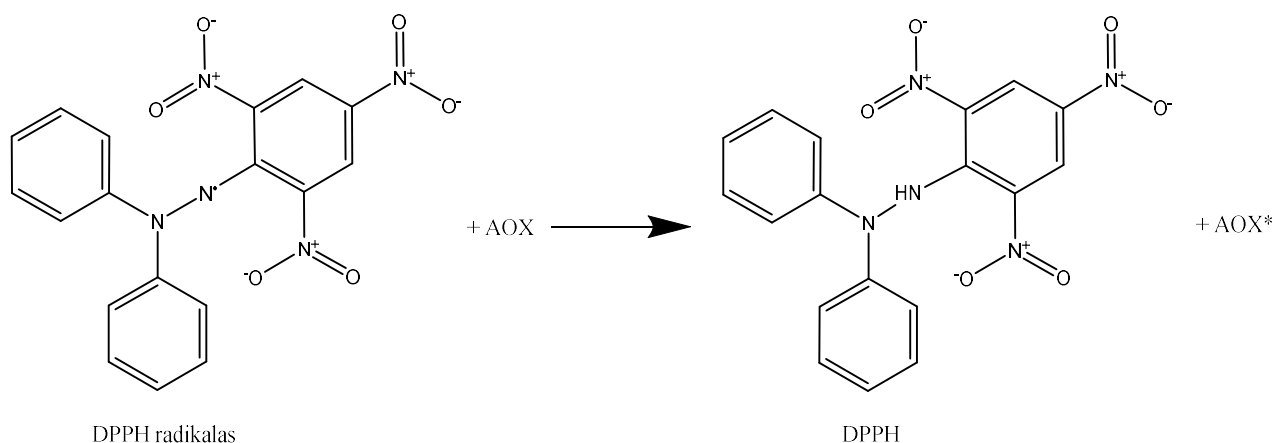
Eterinių aliejų chemotipų komponentai nustatyti dujų chromatografijos/masių spektroskopijos (GC-MS) metodais. Analizė atlikta naudojant *PerkinElmer Clarus* 500 dujų chromatografijos su liepsnos jonizacijos detektoriumi (GC – FID) ir *Leco Pegasus* 4D masių spektrometrijos su laiko skriejimo masių analizatoriumi (GC – TOF/MS) metodus.

Injektoriaus temperatūra 250 °C, srauto greitis 5 ml/min. Chromatografinės analizės sąlygos: kolonėlės temperatūra pakelta nuo +50 °C iki +280 °C esant +10°C min⁻¹ greičiui. Masės spektrai buvo gauti esant +250 °C, o elektronų jonizacijai esant 70 eV.

Junginiai identifikuoti apskaičiavus jų Kováts (KI) sulaikymo indeksus (pagal C₈ – C₃₀ alkanų standartinį mišinį), palyginti su publikuotais literatūroje, taip pat palyginus gautus masių spektrus su spektrais, esančiais ADAMS masių spektrų bibliotekose. Junginiai identifikuoti tik esant KI ir MS suderinamumui.

2.4. Eterinių aliejų antioksidacinio aktyvumo nustatymas

Eterinių aliejų antioksidacinis aktyvumas ištirtas DPPH metodu. DPPH yra stabilus radikalas, kurio tirpalas yra violetinės spalvos. Šis metodas paremtas radikalo 1,1-difenil-2-pikrilhidrazilo (radikalas DPPH) (3 pav.) virtimu į stabilų junginį DPPH, prijungiant vandenilio atomą iš medžiagos, pasižyminčios antioksidacinėmis savybėmis. DPPH reaguojant su antioksidantais, spalva blunka, gelsvėja. Spalvos pokytis išmatuojamas esant 517 nm bangos ilgiui.



3 pav. Supaprastintas DPPH radikalo virtimas stabiliu DPPH

Atliekant šį tyrimą, pirmiausiai paruoštas (0,1 mM) DPPH tirpalas etanolyje. 0,4 ml DPPH tirpalo įpilta į 0,4 ml etanolio ir sumaišyta su 0,4 ml gryno EA (pačiulio, kedro ar apelsino) arba įvairios koncentracijos (5 % ar 30 %) EA (pačiulio, kedro ar apelsino). Kiekvienas tyrimas atliktas 3 pakartojimais. Kontrolinis bandinys ruoštas su 0,4 ml etanolio ir 0,4 ml DPPH tirpalu. Bandiniai laikyti tamsoje 25 min kambario temperatūroje. Po 25 minučių spektrofotometru išmatuota kontrolinio mėginio bei tiriamųjų mėginių šviesos sugertis esant 517 nm bangos ilgiui.

Antioksidacinis aktyvumas (AA) apskaičiuotas pagal formulę (2.4):

$$AA = \frac{A_K - A_T}{A_K} \times 100; \quad (2.4)$$

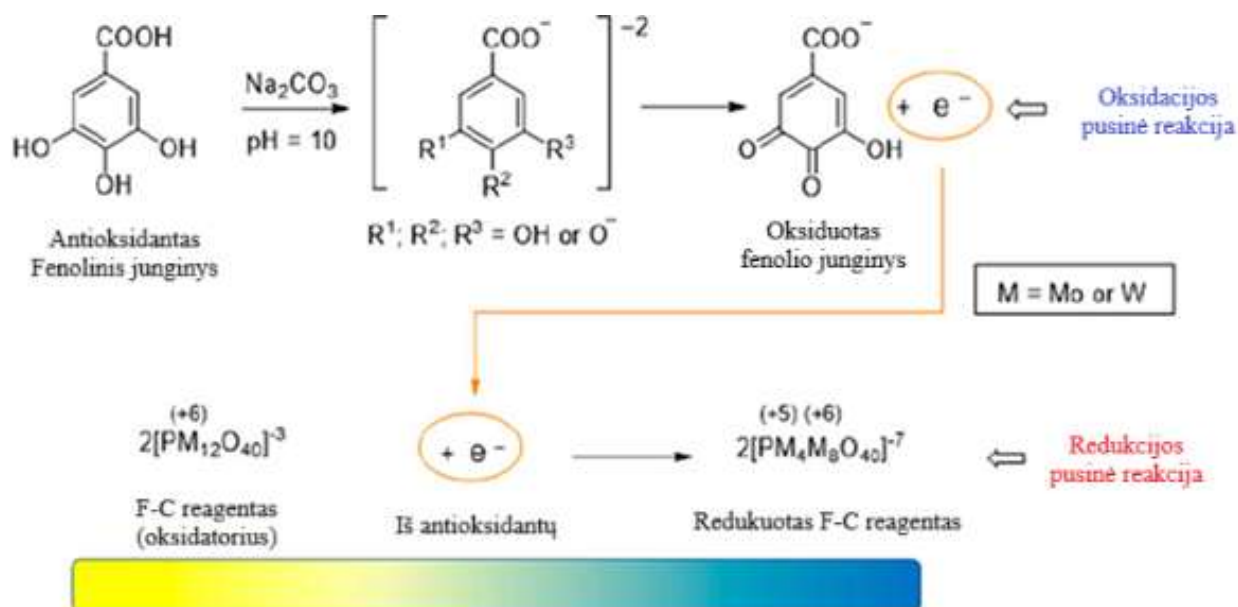
čia AA – antioksidacinis aktyvumas, %;

A_K – kontrolinio tirpalo šviesos sugertis;

A_T – tiriamojo tirpalo šviesos sugertis.

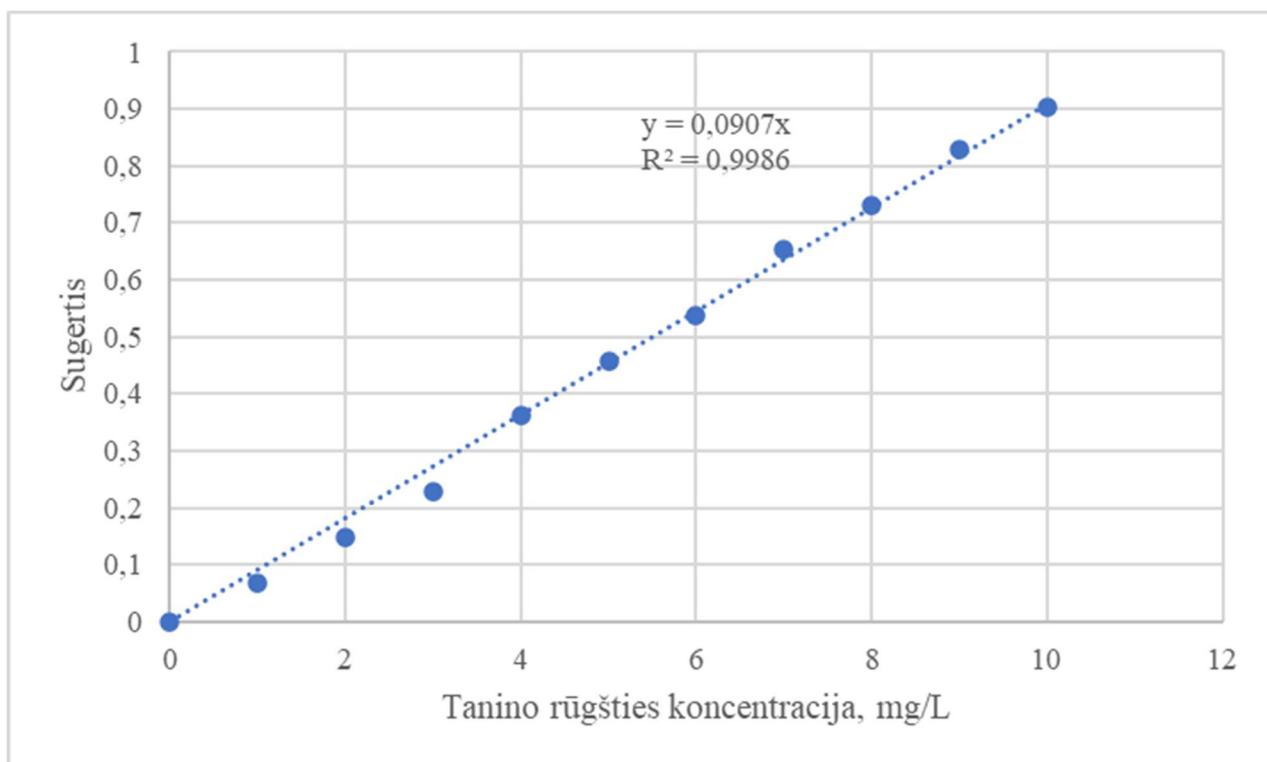
2.5. Bendrosios fenolinių junginių koncentracijos nustatymas

Eterinių aliejų bendra fenolinių junginių koncentracija ištirta Folino – Kiokalto (FC) (angl. *Folin – Ciocalteu*) metodu. Šis metodas pagrįstas fenolinių junginių oksidacijos reakcija šarminėje aplinkoje su fosfomolibdato ir fosfovolframo rūgčių kompleksu, kuris yra FC reagentas. Vykstant reakcijai, geltonos spalvos FC reagentas sudaro kompleksą su fenoliniais junginiais ir nudažo tirpalą mėlyna spalva (4 pav.). Taigi, bendros fenolinių junginių koncentracijos nustatymo metodas pagrįstas elektronų perdavimo reakcija ir susijęs su fenolinių antioksidantų redukcine galia.



4 pav. Bendroji Folino – Kiokalto (FC) reakcija [12]

Atliekant šį eksperimentą paruošta kalibracinė kreivė (5 pav.). Tam į mėgintuvėlius supilstyta po 0; 20; 40; 60; 80; 100; 120 μl standartinio tanino rūgšties tirpalo (0,1 mg/ml). Tada į kiekvieną mėgintuvėlį pridėta distiliuoto vandens iki 500 μl . Į šį tirpalą taip pat pridėta 250 μl Folino – Kiokalto reagento ir 1,25 ml 7,5 % natrio karbonato tirpalo. Viskas sumaišyta ir inkubuota kambario temperatūroje 40 min tamsoje. Po 40 min išmatuota šviesos sugertis, esant 725 nm bangos ilgiui.



5 pav. Tanino rūgšties kalibracinė kreivė

Tyrimui paimta po 30 μl skirtingų koncentracijų (5 % ar 30 %) tiriamojo eterinio aliejaus (pačiulio, kedro ar apelsino) ir praskiesta acetonu iki 500 μl . Tada į jį pridėta 250 μl Folino – Kiokalto reagento

ir įpilta 1,25 ml 7,5 % natrio karbonato tirpalo. Sumaišius inkubuota kambario temperatūroje 40 min tamsoje. Po 40 min spektrofotometru *Shimadzu UV-1280* išmatuota šviesos sugertis esant 725 nm bangos ilgiui.

Bendra fenolinių junginių koncentracija išreikšta tanino rūgšties ekvivalentais (mg/l), naudojant prieš tai sudarytą kalibracinę kreivę.

2.6. Mikroorganizmų izoliatų ruošimas

Kiekvienos padermės grybų izoliatai prieš tyrimą auginti ant PDA terpės 7 paras tamsoje, 25 ± 2 °C temperatūroje, termostate.

Kiekviena bakterijų padermė prieš tyrimą auginta ant PCA terpės nuožulnaus agaro tamsoje, 37 ± 2 °C temperatūroje, termostate.

2.7. Valiklio ruošimas

Šiam eksperimentui gaminti 3 valikliai, po 50 ml su skirtingais eteriniais aliejais. Į matavimo kolbą įpilta 46,5 ml dH₂O. Šildant kolbą įdėta 1 ml natrio laurilo eterio sulfato ir 1,5 ml koko gliukozido, Viso proceso metu lėtai maišoma, kad būtų išvengta putojimo. Tuomet į paruoštą tirpalą įpiltas 1 ml pasirinkto eterinio aliejaus arba aliejų mišinio. Taip pat gamintas kontrolinis valiklis be EA priedo.

2.8. Eterinių aliejų ir valiklių tiriamųjų koncentracijų ruošimas

Norint įvertinti skirtingų eterinių aliejų koncentracijų įtaką mikroskopinių grybų augimui difuzijos į agarą metodu, pasirinktos penkios eterinių aliejų koncentracijos 125, 250, 500, 1000, 3000 ppm. Ppm – milijono dalys (angl. *parts per million*, 10^{-6}), 1 ppm atitinka 1 µl/l arba 10^{-6} l/l (žr. 3 lentelę).

3 lentelė. Eterinių aliejų koncentracijos naudotos fungicidiniuose tyrimuose

Eterinis aliejus	Koncentracija, ppm
Tikrojo pačiulio (lot. <i>Pogostemon cablin</i> Benth.)	125; 250; 500; 1000; 3000
Apelsininio citrinmedžio (lot. <i>Citrus sinensis</i> L.)	125; 250; 500; 1000; 3000
Teksaso kedro (lot. <i>Juniperus mexicana</i> Schiede.)	125; 250; 500; 1000; 3000

Įvertinta pagamintų valiklių skirtingų koncentracijų įtaka mikroskopinių grybų augimui difuzijos į agarą metodu. Pasirinktos dvi valiklių koncentracijos (1000, 3000 ppm) (žr. 4 lentelę).

4 lentelė. Valiklių koncentracijos naudotos fungicidiniuose tyrimuose

Valiklis	Koncentracija, ppm
Pačiulio EA + valiklis	1000; 3000
Apelsino EA + valiklis	1000; 3000
Pačiulio EA + apelsino EA + valiklis	1000; 3000
Valiklis be EA	11000; 3000

Įvertinta skirtingų eterinių aliejų koncentracijų įtaka bakterijų ir mielių augimui difuzijos į agarą metodu (žr. 5 lentelę).

5 lentelė. Eterinių aliejų koncentracijos naudotos antibakteriniuose tyrimuose

Eterinis aliejus	Koncentracija, %
Tikrojo pačiulio (lot. <i>Pogostemon cablin</i> Benth.)	5, 10, 30
Apelsininio citrinmedžio (lot. <i>Citrus sinensis</i> L.)	1, 5, 10, 30
Teksaso kedro (lot. <i>Juniperus mexicana</i> Schiede.)	5, 10, 30, 50, 70

2.9. Eterinių aliejų ir valiklių fungicidinis poveikis mikroskopinių grybų augimui

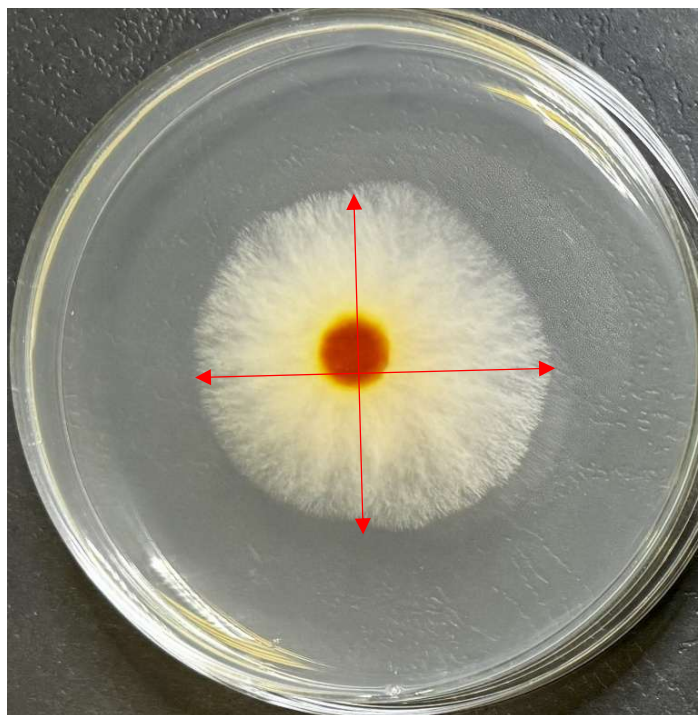
Eterinių aliejų ir valiklių fungicidinėms savybėms įvertinti buvo pasirinktos 5 mikroskopinių grybų kultūros, išvardintos 2.1 poskyryje. Šie grybai pasirinkti dėl jų didelio paplitimo aplinkoje ir plačiai aprašomo patogeniškumo literatūroje.

Mikroskopinių grybų auginimui naudota terpė PDA, ruošama pagal gamintojo nurodymus. Pasvertas reikiamas kiekis terpės miltelių ištirpinamas distiliuotame vandenyje, vėliau sterilizuojamas autoklave 15 min., 121 °C temperatūroje. Terpei atvėsus iki $+47 \pm 2$ °C temperatūros, pastoviai maišant, įpilama 0,1 ml/100 ml *Tween 20* emulsiklio ir su automatiniu dozatoriumi į paruoštą terpę įpilamas skirtingas kiekis gryno eterinio aliejaus pagal numatytas koncentracijas (žr. 3 lentelę). Terpės su *Tween 20* ir eterinio aliejaus mišiniu yra gerai išmaišomos ir išpilstomos į 90 mm skersmens *Petri* lėkšteles po 12 ± 2 ml. Tyrimui naudoti 3 eteriniai aliejai, lygiagrečiai gaminama kontrolinė terpė be EA priedo. Paruoštoms terpėms leidžiama sustingti ant horizontalaus paviršiaus.

Paruoštos terpės sužymimos pagal EA koncentracijas terpėje ir tiriamojo mikroskopinio grybo rūšį. Kiekvienos mikroskopinio grybo rūšies izoliato micelio diskai (8 mm skersmens), paimti iš septynių paras augintų izoliatų kultūrų krašto, atsargiai dedami miceliu žemyn į pažymėtos *Petri* lėkštelės centrą. Tuomet *Petri* lėkštelės su mikroorganizmais inkubuojamos termostate $+25 \pm 2$ °C temperatūroje 7 paras arba iki kol tiriamo izoliato augimas kontrolinėje lėkštelėje (terpėje be EA priedo) pasieks lėkštelės kraštą. Fungicidinio aktyvumo vertinimo tyrimas atliekamas trimis pakartojimais.

Izoliatų augimo greitis (mm per parą) matuotas kas 24 valandas liniuote dviem statmenomis kryptimis (6 pav.).

Fungicidinis valiklių poveikis mikroskopinių grybų augimui vertinamas analogiškai. Į paruoštą terpę įpilamas skirtingas kiekis pagaminto valiklio pagal numatytas koncentracijas (žr. 4 lentelę). Tyrime naudoti 3 valikliai, kontroliniame variante naudotas valiklis be EA priedo. Fungicidinio aktyvumo vertinimas atliekamas 3 pakartojimais.



6 pav. Mikroskopinio grybo izoliato skersmens matavimas

2.10. Mikroskopinių grybų augimo slopinimo vertinimas

Grybo micelio augimo slopinimo koeficientas nustatomas pagal formulę (2.10) [64]:

$$SK = \frac{a - b}{a} \times 100; \quad (2.10)$$

čia SK – slopinimo koeficientas, %;

a – izoliato augimo skersmuo kontrolinėje lėkštelėje, mm;

b – izoliato augimo skersmuo lėkštelėje su fungicidais, mm.

Pagal augimo slopinimo koeficientą nustatomas mikroskopinio grybo jautrumo fungicidinei medžiagai laipsnis (žr. 6 lentelę). Atliekant tyrimą, lygiagrečiai vizualiai vertintas *Petri* lėkštelėse (terpėse su skirtingomis fungicidinės medžiagos koncentracijomis) augančių mikroskopinių grybų spalvos pakitimas.

6 lentelė. Slopinimo koeficiento jautrumo skalė, SK

Mikroskopinio grybo jautrumo laipsnis	Augimo slopinimo koeficientas, %
Mažas slopinimas	< 3 %
Vidutinis slopinimas	3–50 %
Stiprus slopinimas	> 50 %

2.11. Eterinių aliejų ir valiklių slopinantis poveikis bakterijų ir mielių kultūrų augimui

Eterinių aliejų ir valiklių antimikrobinės savybės įvertinti buvo pasirinktos 6 gramteigiamų, 5 gramneigiamų bakterijų ir 5 mielių kultūros, išvardintos 2.1 poskyryje. Šie mikroorganizmai pasirinkti dėl jų paplitimo aplinkoje ir plačiai aprašyto patogeniškumo literatūroje. Eterinių aliejų ir valiklių antimikrobinis aktyvumas vertintas naudojant tradicinį difuzijos į agarą metodą.

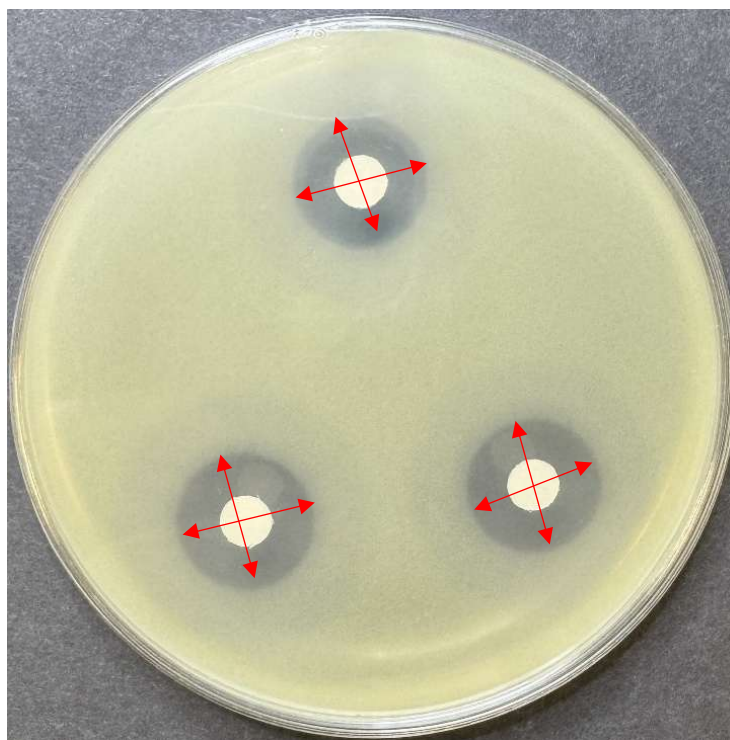
Nustatant jautrių bakterijų kultūrų jautrumą tiriamiesiems eteriniams aliejams ir pagamintiems valikliams, pirmiausiai paruošta kiekvienos mikroorganizmo kultūros suspensija (1×10^6 KSV/ml).

Bakterijų auginimui naudojama PCA terpė, ruošama pagal gamintojo nurodymus. Reikiamas terpės kiekis ištirpinamas distiliuotame vandenyje ir sterilizuojamas autoklave 15 min, $121\text{ }^{\circ}\text{C}$ temperatūroje. Kiekvieno mikroorganizmo suspensija pilama į iki $+47 \pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$ temperatūros atvėsintą terpę (į 100 ml terpės pilamas 1 ml atitinkamo mikroorganizmo suspensijos). Paruoštos terpės su bakterijų kultūromis išpilstomos į 90 mm skersmens *Petri* lėkšteles po 12 ± 2 ml. Terpei leidžiama sustingti ant horizontalaus paviršiaus. Po to ant atvėsusios terpės, atsargiai, uždedami apvalūs sterilūs 8 mm skersmens filtriukai. Ant kiekvieno filtriuko lašinama po 10 μl tiriamojo eterinio aliejaus tirpalų pagal sužymėtas koncentracijas (žr. 5 lentelę). Tuomet *Petri* lėkštelės su pasėtais mikroorganizmais sudedamos į termostatą ir inkubuojamos 24 valandas $+37 \pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$ temperatūroje.

Antibakterinis eterinių aliejų poveikis prieš gramteigiamas ir gramneigiamas bakterijas vertintas po 24 val. Kiekvienas filtriukas, aplinkui kurį susidarė skaidri bakterijų augimo slopinimo zona matuojamas dviem statmenomis kryptimis (7 pav.). Antibakterinio aktyvumo vertinimas atliktas 3 pakartojimais.

Atliekant bandymus su mielių kultūromis naudojama tokia pati darbo eiga, tačiau mielių auginimui yra ruošama PDA terpė.

Valiklių poveikis bakterijų ir mielių kultūrų augimui yra vertinamas analogiškai.



7 pav. Bakterijų ir mielių kultūrų augimo slopinimo zonos matavimas

2.12. Bakterijų ir mielių kultūrų augimo slopinimo vertinimas

Bakterijų ir mielių augimo slopinimo koeficientas nustatomas pagal formulę (2.12):

$$H = \frac{D - d}{2}; \quad (2.12)$$

čia H – slopinimo zonos plotis, mm;

D – bendras sterilios zonos ir filtriuko skersmuo, mm;

d – filtriuko skersmuo, mm.

Pagal augimo slopinimo koeficientą nustatomas mikroorganizmo jautrumo antimikrobinėms medžiagoms laipsnis (žr. 7 lentelę).

7 lentelė. Mikroorganizmų jautrumo antimikrobinėms medžiagoms laipsnio įvertinimas pagal augimo slopinimo zonos plotį

Mikroorganizmų jautrumo laipsnis	Augimo slopinimo zonos plotis, mm
Atsparūs	< 4
Mažai jautrūs	Nuo 4 iki 5
Jautrūs	Nuo 5 iki 10
Labai jautrūs	> 10

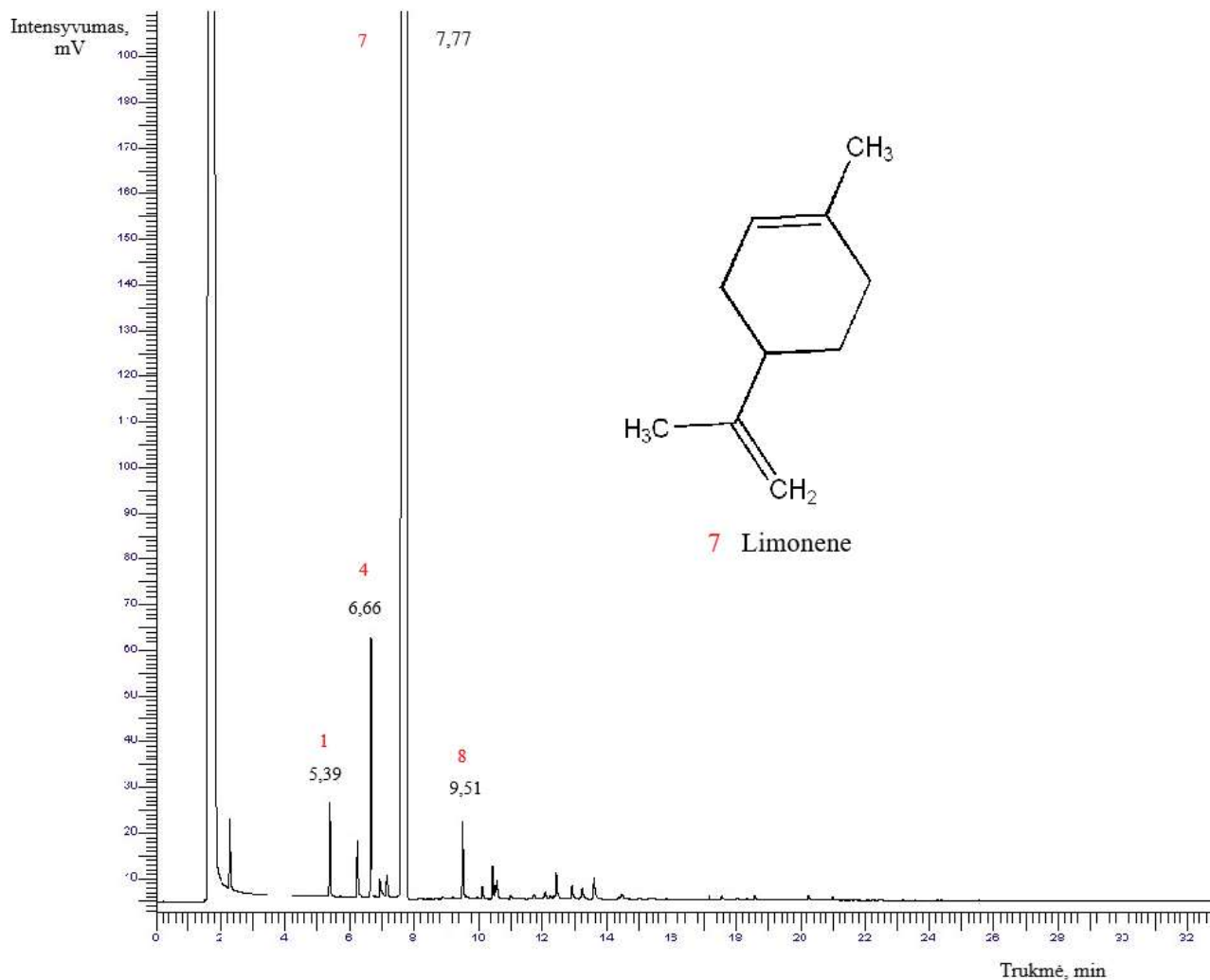
2.13. Duomenų apdorojimas

Duomenims apdoroti naudota „Microsoft Office Excel 2016“ programa. Apskaičiuoti tyrimo duomenų vidurkio standartiniai nuokrypiai, nurodytos vertės išreikštos kaip vidurkis $\pm$ standartinis nuokrypis.

3. Tyrimų rezultatai ir jų aptarimas

3.1. Apelsininio citrinmedžio (lot. *Citrus sinensis* L.) eterinio aliejaus chemotipas

Analizuojant mokslinę literatūrą apie augalų EA galima nesunkiai pastebėti, kad EA sudėtis priklauso ne tik nuo augalo genties ar rūšies, augavietės, kurioje surinkta žaliava, bet ir nuo jo išgavimo būdo [65]. Kokybinė ir kiekybinė aliejų analizė atlikta naudojant GC-MS metodą, tyrimo metu identifikuoti kiekvieno augalo aliejui būdingi junginiai. Paveiksle 8 pateikiama apelsininio citrinmedžio (lot. *Citrus sinensis* L.) EA chromatograma su struktūrine formule junginio, kurio procentinė dalis buvo didžiausia. Šio tyrimo metu siekta nustatyti *C. sinensis* EA vyraujančius komponentus.



8 pav. Apelsininio citrinmedžio (lot. *Citrus sinensis* L.) EA chromatograma

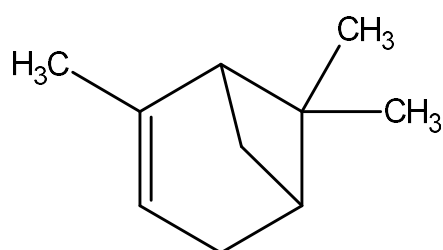
Žemiau pateikta lentelė su nustatytais *C. sinensis* EA cheminiais komponentais, pateikta junginio sulaikymo trukmė (RT), paskaičiuotas Kováts indeksas, pateiktas santykių komponento koncentracija (žr. 8 lentelę). Iš viso nustatyta 99,66 % *C. sinensis* EA komponentų. Apelsino EA nustatytas dominuojantis junginys limonenas, kuris sudarė 95,37 % junginio. Kiti dominuojantys junginiai: mircenas 1,65 %, α -pinenas 0,54 % ir linaloolis 0,46 % (9 pav.). Šio tyrimo rezultatai beveik sutampa su M.J Velazquez-Nunez [47] tyrimu, kurio metu iš išskirtų apelsino žievelių EA buvo nustatyti pagrindiniai komponentai limonenas (96,62 %), mircenas (1,72 %) α -pinenas ir β -pinenas.

8 lentelė. Apelsininio citrinmedžio eteriniame aliejuje identifikuoti komponentai ir jų koncentracijos

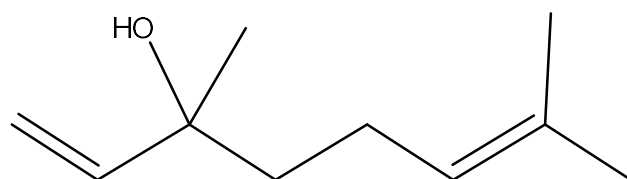
Piko nr.	Eterinio aliejaus komponentas	Sulaikymo trukmė (RT), min	KI*	CAS	Santykinis procentas	Molekulinė formulė
1	α -Pinene	5,39	940	80-56-8	0,54 %	C ₁₀ H ₁₆
2	Sabinene	6,26	979	3387-41-5	0,35 %	C ₁₀ H ₁₆
3	β -Pinene	6,35	982	127-91-3	0,02 %	C ₁₀ H ₁₆
4	Myrcene	6,66	995	123-35-3	1,65 %	C ₁₀ H ₁₆
5	n-Octanal	6,95	1007	124-13-0	0,18 %	C ₈ H ₁₆ O
6	δ -3-carene	7,16	1016	13466-78-9	0,17 %	C ₁₀ H ₁₆
7	Limonene	7,77	1041	138-86-3	95,37 %	C ₁₀ H ₁₆
8	Linalool	9,51	1104	78-70-6	0,46 %	C ₁₀ H ₁₈ O
9	n-Nonanal	10,12	1128	124-19-6	0,08 %	C ₉ H ₁₈ O
10	cis-Limonene oxide	10,45	1141	13837-75-7	0,20 %	C ₁₀ H ₁₆ O
11	trans-Limonene oxide	10,58	1146	4959-35-7	0,13 %	C ₁₀ H ₁₆ O
12	(E)-Isocitral	12,10	1197	55722-59-3	0,05 %	C ₁₀ H ₁₆ O
13	n-Decanal	12,25	1202	112-31-2	0,02 %	C ₁₀ H ₂₀ O
14	Citronellol	12,42	1209	106-22-9	0,16 %	C ₁₀ H ₂₀ O
15	Neral	13,25	1241	106-26-3	0,09 %	C ₁₀ H ₁₆ O
16	Carvone	13,59	1253	99-49-0	0,17 %	C ₁₀ H ₁₄ O
17	Geranial	14,48	1284	141-27-5	0,04 %	C ₁₀ H ₁₆ O
	Iš viso identifikuota:				99,66 %	

* Kovąts sulaikymo indeksas apskaičiuotas pagal alkanų mišinį nepolinėje kolonėlėje.

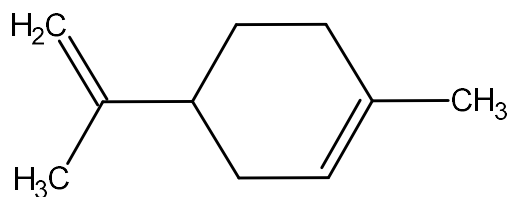
** Kosmetinis alergenai (silpnai).



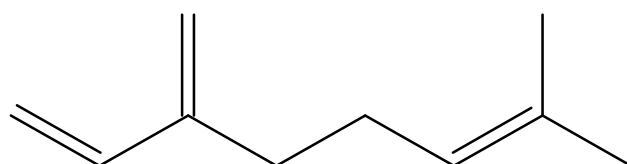
α -pinenas (0,54 %)



linalolis (0,46 %)



limonenas (95,37 %)

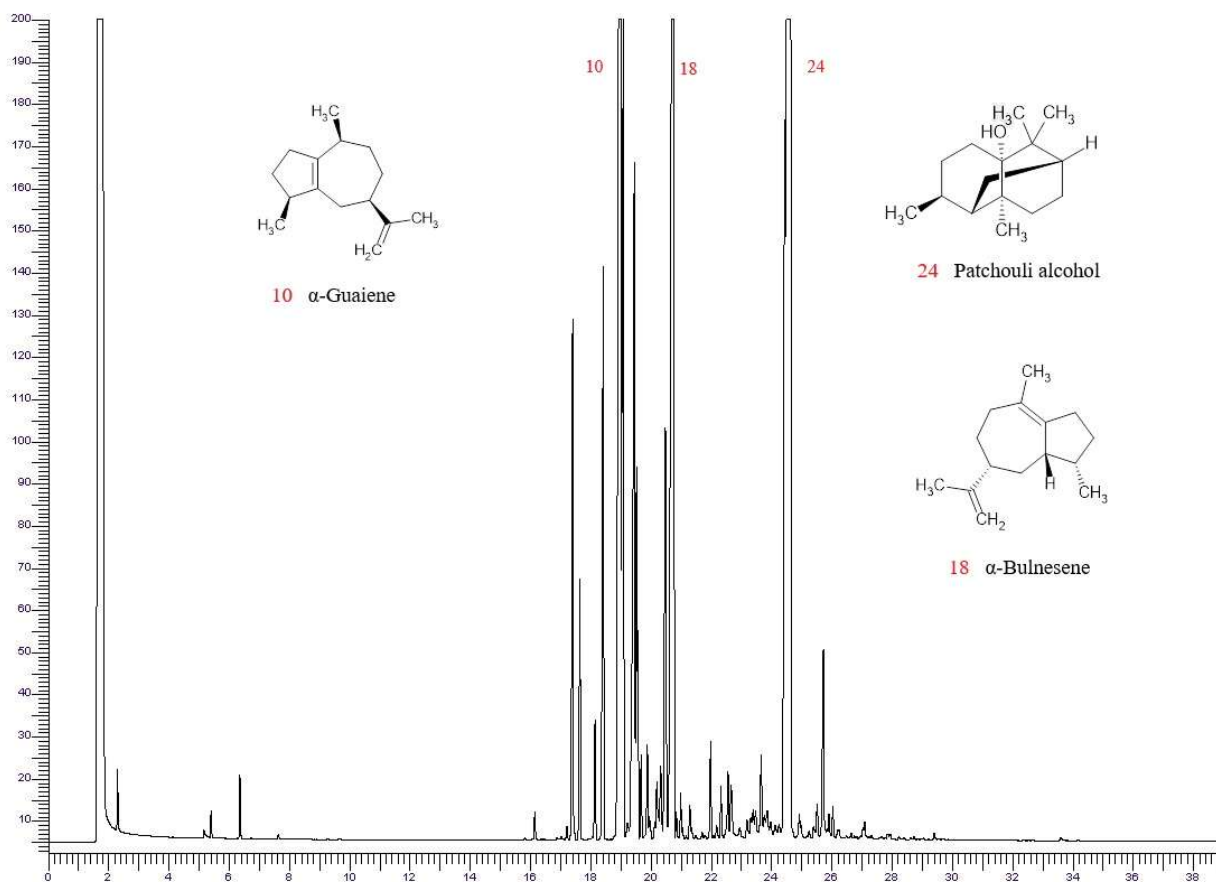


mircenai (1,65 %)

9 pav. Dominuojančių apelsininio citrinmedžio (lot. *Citrus sinensis* L.) EA komponentų molekulinės struktūros

3.2. Tikrojo pačiulio (lot. *Pogostemon cablin* Benth.) eterinio aliejaus chemotipas

Šio tyrimo metu siekta nustatyti *P. cablin* EA vyraujančius komponentus. Žemiau pateikiama tikrojo pačiulio EA chromatograma su trimis struktūrinėmis formulėmis junginių, kurių procentinė dalis buvo didžiausia (10 pav.).



10 pav. Tikrojo pačiulio (lot. *Pogostemon cablin* Benth.) EA chromatograma

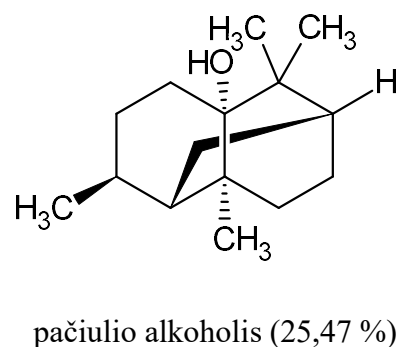
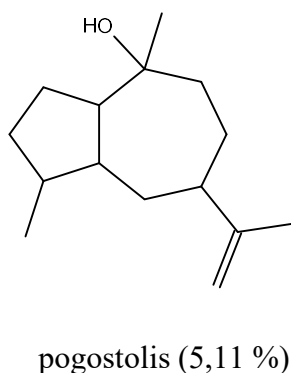
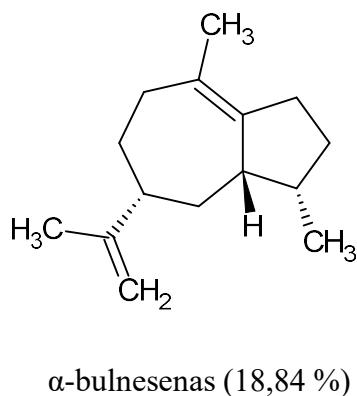
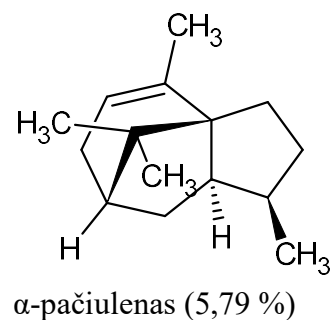
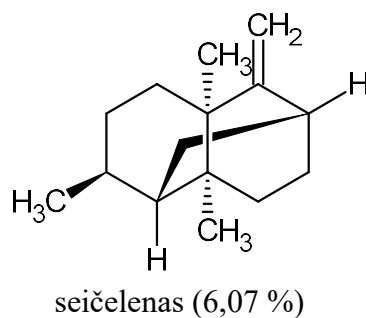
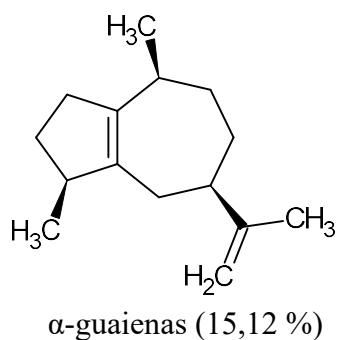
Žemiau pateikta lentelė su identifikuotais *P. cablin* EA cheminiais komponentais (žr. 9 lentelę). Iš viso nustatyta 93,21 % *P. cablin* EA komponentų. Pačiulio EA nustatyti junginiai: pačiulio alkoholis, kuris sudarė 25,47 % junginio, α -bulnesenas 18,84 %, α -guaienas 15,12 %, seičelenas 6,07 %, α -patchoulenas 5,79 %, pogostolis 5,11 % trans-caryophylenas 3,40 %, γ -patchoulenas 3,16 %, β -patchoulenas 2,87 % ir cycloseychellenas 1,35 %. Dominuojančių komponentų struktūros pateiktos 11 paveiksle, kiti EA komponentai sudarė mažą procentinę dalį (<5 %). Šio tyrimo rezultatai beveik sutampa su F. Souhoka [66] tyrimu, kurio metu iš išskirtų pačiulio EA buvo nustatyti pagrindiniai komponentai α -guaienas (18,61 %) ir pačiulio alkoholis (22,70 %). Taip pat šios sudėties komponentai patenka į 1.3.1 poskyryje aptartą 1 lentelėje pateiktą procentinį vidurkį – tai rodo, kad GC-MS analizės chromatograma išanalizuota teisingai.

9 lentelė. Tikrojo pačiulio eteriniame aliejuje identifikuoti komponentai ir jų koncentracijos

Piko nr.	Eterinio aliejaus komponentas	RT, min	KI*	CAS	Santykinis procentas	Molekulinė formulė
1	α -Pinene	5,39	941	80-56-8	0,10 %	C ₁₀ H ₁₆
2	β -Pinene	6,35	983	127-91-3	0,24 %	C ₁₀ H ₁₆

9 lentelės tęsinys

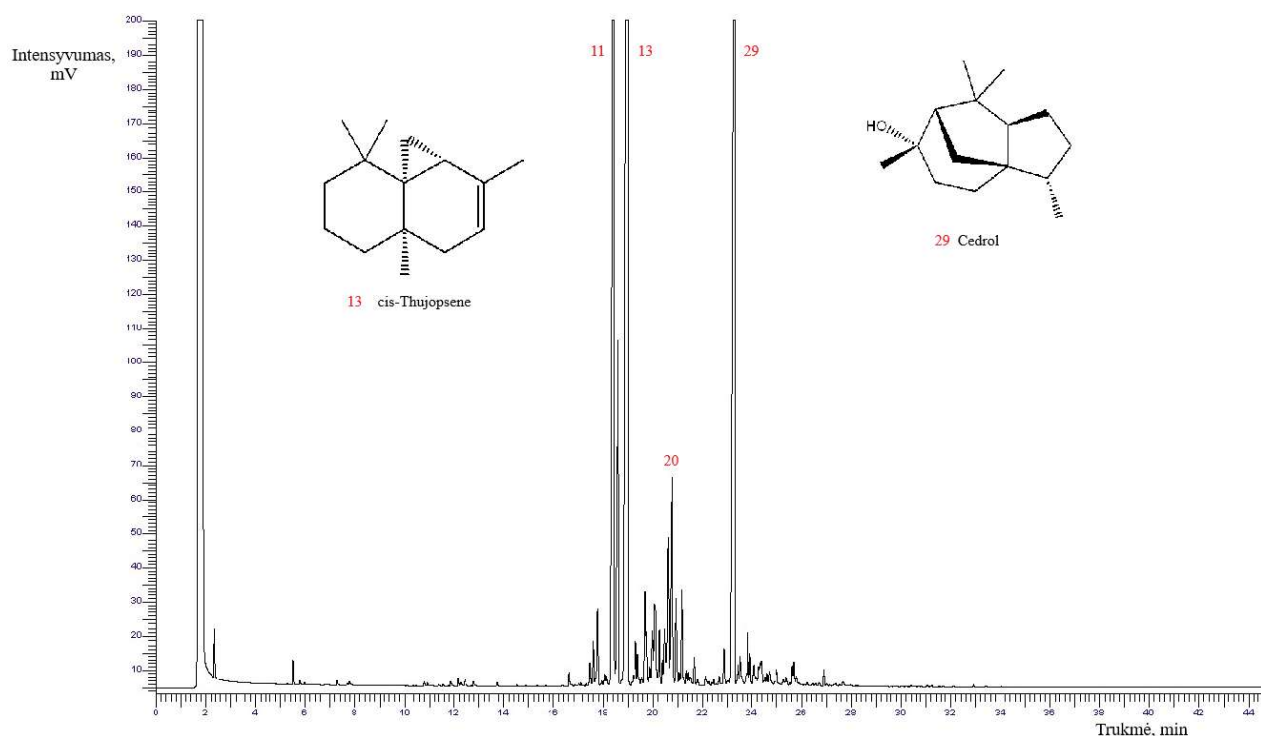
Piko nr.	Eterinio aliejaus komponentas	RT, min	KI*	CAS	Santykinis procentas	Molekulinė formulė
3	Limonene**	7,77	1037	138-86-3	0,02 %	C ₁₀ H ₁₆
4	δ-Elemene	16,16	1347	20307-84-0	0,13 %	C ₁₅ H ₂₄
5	α-Copaene	17,04	1379	3856-25-5	0,01 %	C ₁₅ H ₂₄
6	β-Patchoulene	17,42	1392	514-51-2	2,87 %	C ₁₅ H ₂₄
7	Cycloseychellene	17,66	1401	52617-34-2	1,35 %	C ₁₅ H ₂₄
8	β-Ylangene	18,17	1422	20479-06-5	0,61 %	C ₁₅ H ₂₄
9	trans-Caryophyllene	18,44	1433	87-44-5	3,40 %	C ₁₅ H ₂₄
10	α-Guaiene	19,01	1455	3691-12-1	15,12 %	C ₁₅ H ₂₄
11	Seychellene	19,11	1459	20085-93-2	6,07 %	C ₁₅ H ₂₄
12	6,9-Guaiadiene	19,25	1464	37839-64-8	0,15 %	C ₁₅ H ₂₄
13	α-Patchoulene	19,47	1473	560-32-7	5,79 %	C ₁₅ H ₂₄
14	Sesquisabinene	19,55	1476	58319-04-3	2,02 %	C ₁₅ H ₂₄
15	Germacrene D	19,90	1489	23986-74-5	0,51 %	C ₁₅ H ₂₄
16	Aciphyllene	20,34	1506	87745-31-1	0,46 %	C ₁₅ H ₂₄
17	γ-Patchoulene	20,50	1513	508-55-4	3,16 %	C ₁₅ H ₂₄
18	α-Bulnesene	20,79	1525	3691-11-0	18,84 %	C ₁₅ H ₂₄
19	7-epi-α-Selinene	21,01	1534	123123-37-5	0,21 %	C ₁₅ H ₂₄
20	Norpatchoulenol	22,00	1575	41429-52-1	0,51 %	C ₁₄ H ₂₂ O
21	Caryophyllene oxide	22,58	1597	1139-30-6	0,40 %	C ₁₅ H ₂₄ O
22	14-hydroxy-(Z)-Caryophyllene	23,68	1646	78683-81-5	0,55 %	C ₁₅ H ₂₄ O
23	Pogostol	24,47	1680	21698-41-9	5,11 %	C ₁₅ H ₂₆ O
24	Patchouli alcohol	24,66	1688	5986-55-0	25,47 %	C ₁₅ H ₂₆ O
25	Intermedeol	24,95	1699	6168-59-8	0,14 %	C ₁₅ H ₂₆ O
	Iš viso identifikuota:				93,21 %	



11 pav. Dominuojančių tikrojo pačiulio (lot. *Pogostemon cablin* Benth.) EA komponentų molekulinės struktūros

3.3. Teksaso kedro (lot. *Juniperus mexicana* Schiede.) eterinio aliejaus chemotipas

Šio tyrimo metu siekta nustatyti *J. mexicana* EA dominuojančius komponentus. Analizuojant literatūrinėje dalyje aptartą (žr. 1.3.3. poskyryje) *J. mexicana*, buvo pastebėta kad publikacijų apie šio augalo būdingus chemotipus išleista mažai arba jos išleistos labai seniai, todėl ši analizė ir gauti rezultatai galėtų būti naudingi ateityje atliekant tolimesnius tyrimus. Kiekybinės ir kokybinės sudėties tyrimas atliktas naudojant GC-MS metodą. Žemiau pateikiama Teksaso kedro EA chromatograma su struktūrinėmis formulėmis junginių, kurių procentinė dalis buvo didžiausia (12 pav.).



12 pav. Teksaso kedro (lot. *Juniperus mexicana* Schiede.) EA chromatograma

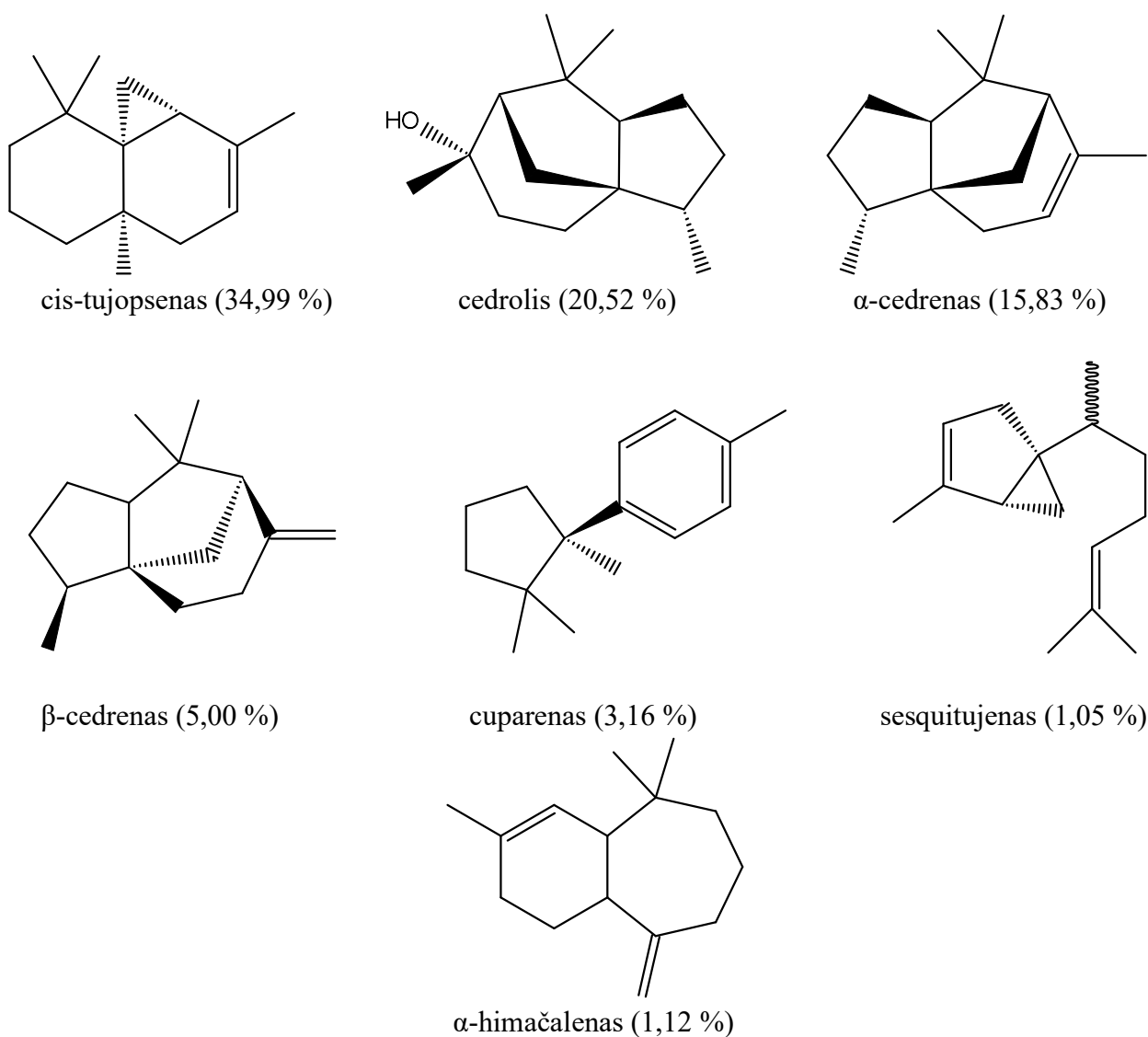
Žemiau pateikiama lentelė su identifiкуotais *J. mexicana* EA cheminiais komponentais (žr. 10 lentelę). Iš viso nustatyta 93,77 % *J. mexicana* EA komponentų. Kedre nustatyti dominuojantys junginiai cis-tujopsenas, kuris sudarė 34,99 % junginio, cedrolis (20,52 %) ir α -cedrenas (15,83 %). Kiti šiek tiek dominuojantys junginiai: β -cedrenas 5,00 %, cuparenas 3,16 %, sesquitujenas 1,05 % ir α -himačalenas 1,12 % pavaizduoti 13 paveiksle. Šių pateiktų pagrindinių komponentų koncentracija iš dalies atitinka į prieš tai 1.3.3 poskyryje aptartus 2 lentelėje pateiktus standartinio reglamento intervalus. Taip pat šio tyrimo rezultatai beveik sutampa su J. Wanner'io ir kt. [54] atlikta analize, kurioje buvo identifiкуoti pagrindiniai komponentai: tujopsenas (38,4 %), cedrolis (28,6 %), α -cedrenas (8,6 %) ir β -cedrenas (3,4 %).

10 lentelė. Teksaso kedro eteriniame aliejuje identifiкуoti komponentai ir jų koncentracijos

Piko nr.	Eterinio aliejaus komponentas	RT, min	KI*	CAS	Santykiniis procentas	Molekulinė formulė
1	α -Pinene	5,47	943	80-56-8	0,20 %	C ₁₀ H ₁₆
2	α -Terpineol	12,11	1198	98-55-5	0,08 %	C ₁₀ H ₁₈ O
3	Myrtenol	12,40	1208	515-00-4	0,10 %	C ₁₀ H ₁₆ O
4	Thymol methyl ether	13,70	1257	1076-56-8	0,05 %	C ₁₁ H ₁₆ O
5	α -Terpinyl acetate	16,58	1362	80-26-2	0,15 %	C ₁₂ H ₂₀ O ₂
6	α -Duprezianene	17,42	1392	79801-29-9	0,28 %	C ₁₅ H ₂₄
7	β -Elemene	17,56	1397	515-13-9	0,49 %	C ₁₅ H ₂₄
8	Sesquithujene	17,73	1404	58319-06-5	1,05 %	C ₁₅ H ₂₄
9	β -Longipinene	18,01	1415	41432-70-6	0,14 %	C ₁₅ H ₂₄
10	trans-Caryophyllene	18,11	1419	87-44-5	0,15 %	C ₁₅ H ₂₄

10 lentelės tęsinys

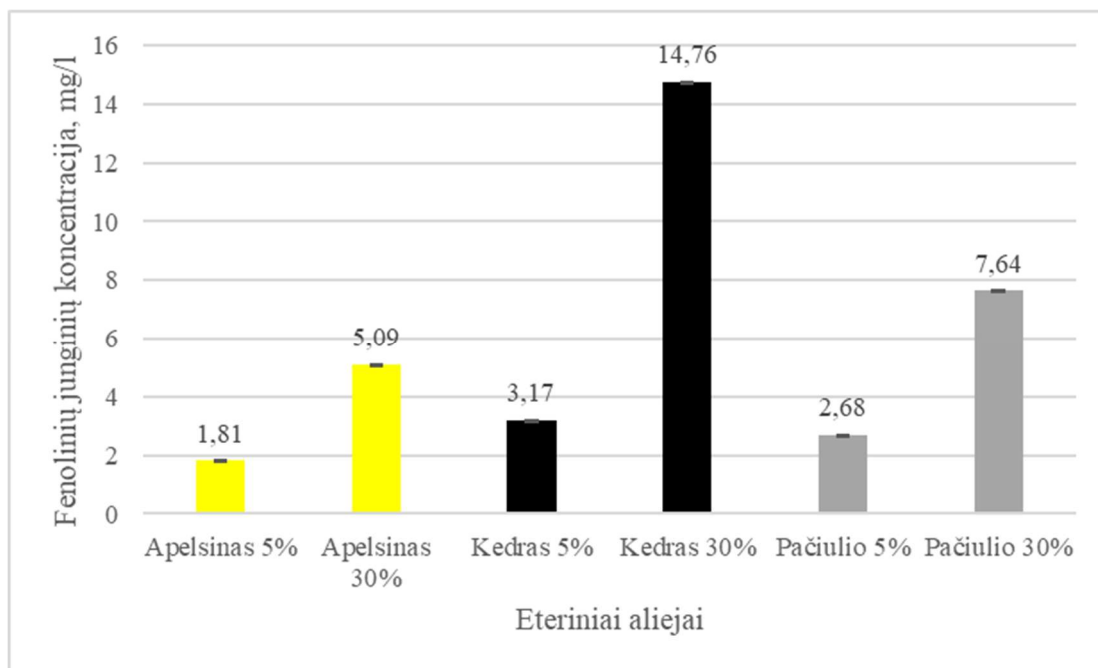
Piko nr.	Eterinio aliejaus komponentas	RT, min	KI*	CAS	Santykinis procentas	Molekulinė formulė
11	α -Cedrene	18,38	1430	469-61-4	15,83 %	C ₁₅ H ₂₄
12	β -Cedrene	18,56	1437	546-28-1	5,00 %	C ₁₅ H ₂₄
13	cis-Thujopsene	18,95	1453	470-40-6	34,99 %	C ₁₅ H ₂₄
14	γ -Elemene	19,27	1465	29873-99-2	0,48 %	C ₁₅ H ₂₄
15	α -Himachalene	19,65	1479	3853-83-6	1,12 %	C ₁₅ H ₂₄
16	cis-Thujopsadiene	20,00	1493	51446-91-4	0,83 %	C ₁₅ H ₂₂
17	ar-Curcumene	20,21	1500	644-30-4	0,61 %	C ₁₅ H ₂₂
18	Germacrene D	20,33	1505	23986-74-5	0,25 %	C ₁₅ H ₂₄
19	α -Amorphene	20,59	1517	20085-19-2	2,30 %	C ₁₅ H ₂₄
20	Cuparene	20,74	1523	16982-00-6	3,16 %	C ₁₅ H ₂₂
21	α -Bulnesene	20,89	1529	3691-11-0	1,10 %	C ₁₅ H ₂₄
22	α -Cuprenene	21,03	1535	29621-78-1	0,10 %	C ₁₅ H ₂₄
23	β -Curcumene	21,13	1539	28976-67-2	1,03 %	C ₁₅ H ₂₄
24	trans-Calamenene	21,30	1546	73209-42-4	0,12 %	C ₁₅ H ₂₂
25	δ -Cuprenene	21,61	1559	98093-94-8	0,29 %	C ₁₅ H ₂₄
26	α -Calacorene	21,68	1562	21391-99-1	0,30 %	C ₁₅ H ₂₀
27	Caryophyllene oxide	22,64	1600	1139-30-6	0,13 %	C ₁₅ H ₂₄ O
28	Widdrol	22,84	1609	6892-80-4	0,42 %	C ₁₅ H ₂₆ O
29	Cedrol	23,26	1627	77-53-2	20,52 %	C ₁₅ H ₂₆ O
30	γ -Eudesmol	23,78	1650	1209-71-8	0,71 %	C ₁₅ H ₂₆ O
31	α -Acorenol	23,88	1655	28296-85-7	0,32 %	C ₁₅ H ₂₆ O
32	β -Acorenol	24,04	1662	28400-11-5	0,32 %	C ₁₅ H ₂₆ O
33	α -Cadinol	24,22	1669	481-34-5	0,20 %	C ₁₅ H ₂₆ O
34	1,7-diepi- α -Cedrenal	24,28	1672	288249-27-4	0,25 %	C ₁₅ H ₂₂ O
35	β -Eudesmol	24,33	1674	473-15-4	0,29 %	C ₁₅ H ₂₆ O
36	Mayurone	25,57	1728	4677-90-1	0,20 %	C ₁₄ H ₂₀ O
37	β -Bisabolenol	26,84	1786	147126-90-7	0,21 %	C ₁₅ H ₂₄ O
	Iš viso identifikuota:				93,77 %	



13 pav. Dominuojančių Teksaso kedro (lot. *Juniperus mexicana* Schiede.) EA komponentų molekulinės struktūros

3.4. Bendra fenolinių junginių koncentracija

Bendra fenolinių junginių koncentracija buvo nustatyta Folino – Kiokalto metodu. Sudaryta kalibracinė kreivė, pagal kurią buvo paskaičiuota fenolinių junginių koncentracija. Tyrimas buvo atliktas pagal 2.5. poskyryje aprašytą metodiką. Bendra fenolinių junginių koncentracija buvo vertinama, naudojant skirtingus eterinius aliejus ir lyginant skirtingas koncentracijas. Bendra fenolinių junginių koncentracija buvo išreikšta tanino rūgšties ekvivalentais, mg/l. Buvo tirti apelsino, kedro ir pačiulio eteriniai aliejai, pasirinktos dvi EA koncentracijos (5 % ir 30 %).



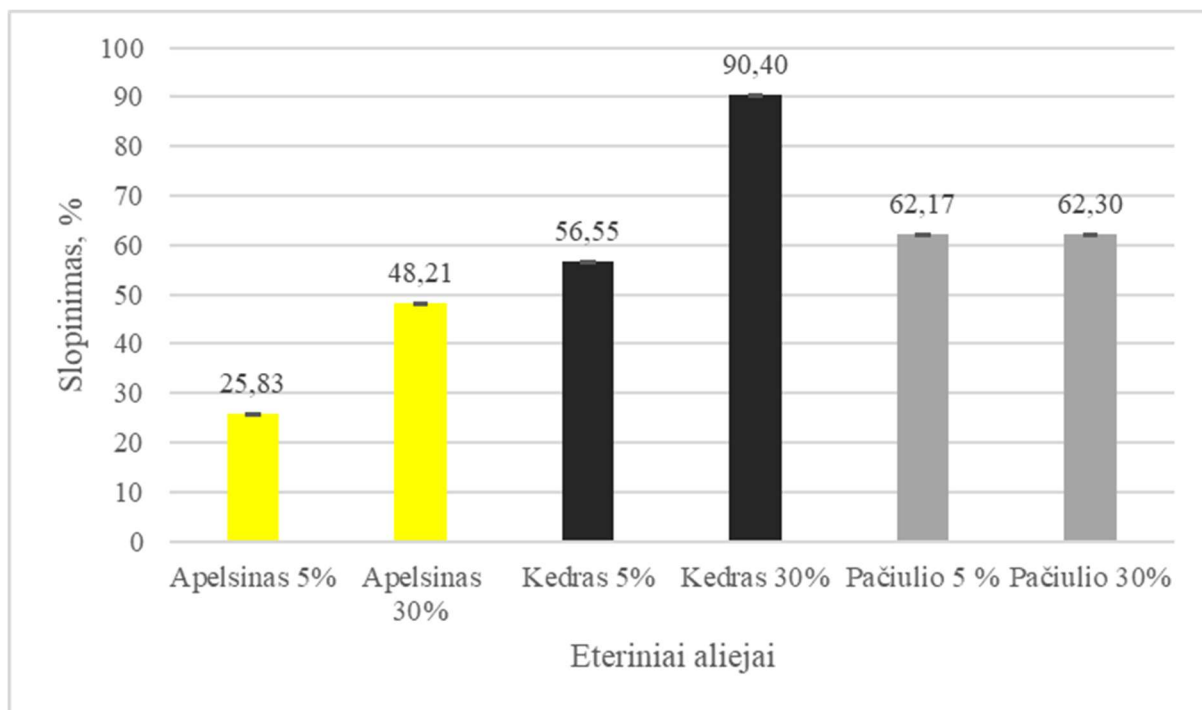
14 pav. Bendra fenolinių junginių koncentracija eteriniuose aliejuose

Didžiausia bendra fenolinių medžiagų koncentracija buvo 30 % kedro eteriniame aliejuje 14,76 mg/l, lyginant su apelsino ir pačiulio EA 30 % koncentracijomis, atitinkamai 5,09 mg/l ir 7,64 mg/l (14 pav.). Mažiausiu bendru fenolinių junginių kiekiu pasižymėjo apelsino eterinis aliejus, tiek 5 %, tiek 30 % koncentracijose. Šie rezultatai rodo, kad didinant eterinio aliejaus koncentraciją didėja fenolinių junginių kiekis. Remiantis kitų mokslininkų tyrimais, pačiulio EA pasižymi mažu arba vidutiniu fenolinių junginių kiekiu. Bendras pačiulio eterinio aliejaus fenolinių medžiagų kiekis etanolio ekstraktuose yra apie 99,59 mg GAE/g, tačiau didesnis kiekis randamas vandeniniuose ekstraktuose – apie 116,88 mg GAE/g [42, 66]. Fenolinių junginių koncentracija citrusinių vaisių žievelėse labai priklauso nuo ekstrahavimo metodų ir sąlygų [68].

3.5. Eterinių aliejų antioksidacinio aktyvumo įvertinimas, naudojant DPPH metodą

Pagal apibrėžimą antioksidantai – tai junginiai, galintys atitolinti arba sulėtinti oksidacijos procesą, net jei naudojama labai maža jų koncentracija (<1 %, paprastai 1–1000 mg/l), lyginant su medžiagos, kurią jie turi apsaugoti, kiekiu [69]. Pagal kilmę antioksidantai skirstomi į natūralius ir sintetinius. Sintetiniai antioksidantai buvo naudojami kaip pagrindiniai antioksidantai, kontroliuojantys oksidaciją, tačiau yra teigiama, kad jie gali neigiamai veikti žmogaus sveikatą. Dėl šios priežasties tiriami EA ir ieškoma alternatyvų sintetiniams antioksidantams. Eteriniuose aliejuose antioksidacines savybes nulemia fenoliniai junginiai, tokie kaip timolis, karvakrolis, eugenolis ir kiti [70].

Antioksidacinio aktyvumo tyrimas atliktas visiems tirtiems EA, dėl žaliavos stokos buvo tirtos dvi pasirinktos eterinių aliejų koncentracijos (5 % ir 30 %). Tyrimas buvo atliktas pagal 2.4 poskyryje aprašytą metodiką.



15 pav. Stabilaus 2,2-difenil-1-pikrilhidrazilo (DPPH) radikalo neutralizacijos fenoliniais junginiais priklausomybė nuo skirtingų koncentracijų eterinių aliejų

Didžiausiu antioksidaciniu aktyvumu pasižymėjo 30 % kedro eterinis aliejus – procentinis DPPH slopinimas 90,40 %. Mažiausiu antioksidaciniu aktyvumu pasižymėjo apelsino eterinis aliejus – procentinis DPPH slopinimas 25,83 % ir 48,21 % (15 pav.). Lyginant šias vertes matoma, kad Teksaso kedro EA pasižymi didesniu antioksidaciniu aktyvumu, nei pačiulio ar apelsino EA. Tokį antioksidacinį aktyvumą galima paaiškinti skirtingu fenolinių junginių koncentracija, tačiau yra pastebėta, kad antioksidacinį poveikį turi ir nefenoliniai junginiai. Eterinio aliejaus antioksidacinį aktyvumą gali lemti, ar sustiprinti ir kiti junginiai, tokie kaip α -terpinenas, γ -terpinenas, limonenas, linalolis, cedrolis [70, 71]. Pačiulio eteriniame aliejuje pagrinde vyrauja seskviterpenai, tokie kaip pačiulio alkoholis, pogostolis, α -bulnezenas, α -guaienas, kurie taip pat gali turėti antioksidacinių savybių. Remiantis N. Syamsidar'o ir kt. [73] atliktu tyrimu, pačiulio eterinis aliejus pasižymi silpnu antioksidaciniu aktyvumu, lyginant su kitais *Lamiaceae* šeimos EA. J.D. Toscano-Garibay ir kt. [51] pateikia panašius rezultatus, savo tyrime nagrinėję *C. sinensis* antioksidacinį aktyvumą, DPPH metodu. Teigiama, kad aktyvumas buvo 6–23 %, palyginti su kito citrinmedžio *C. latifolia* 22–71 % antioksidaciniu aktyvumu.

3.6. Skirtingų eterinių aliejų antimikrobinio aktyvumo tyrimai *in vitro*

Eterinių aliejų ir valiklių antimikrobinio aktyvumo tyrimas atliktas klasikiniu difuzijos į agarą metodu, kurio metu tirtas kiekvienos tiriamosios antimikrobinės medžiagos poveikis pasirinktiems mikroorganizmams, auginamiems mitybinėje terpėje. Eterinių aliejų poveikis tirtas pasirinktoms gramteigiamų (*M. luteus*, *S. aureus*, *S. epidermidis*, *L. monocytogenes*, *B. subtilis*, *B. megaterium*) ir gramneigiamų (*S. agona*, *S. typhimurium*, *S. choleraesuis*, *E. coli*, *E. cloacae*) bakterijų kultūroms. Antimikrobinis poveikis tirtas mielių kultūroms (*R. rubra*, *T. delbrueckii*, *P. kluyveri*, *D. hansenii*, *C. parapsilosis*). Fungicidinis poveikis tirtas mikroskopinių grybų (*F. graminearum*, *F. culmorum*, *F. solani*, *S. sclerotiorum*, *Acremonium sp.*, *A. alternata*) kultūroms. Kituose poskyriuose bus aptariamas skirtingų EA ir valiklių poveikis mikroorganizmams.

3.6.1. Tikrojo pačiulio eterinio aliejaus antimikrobinio aktyvumo įvertinimas

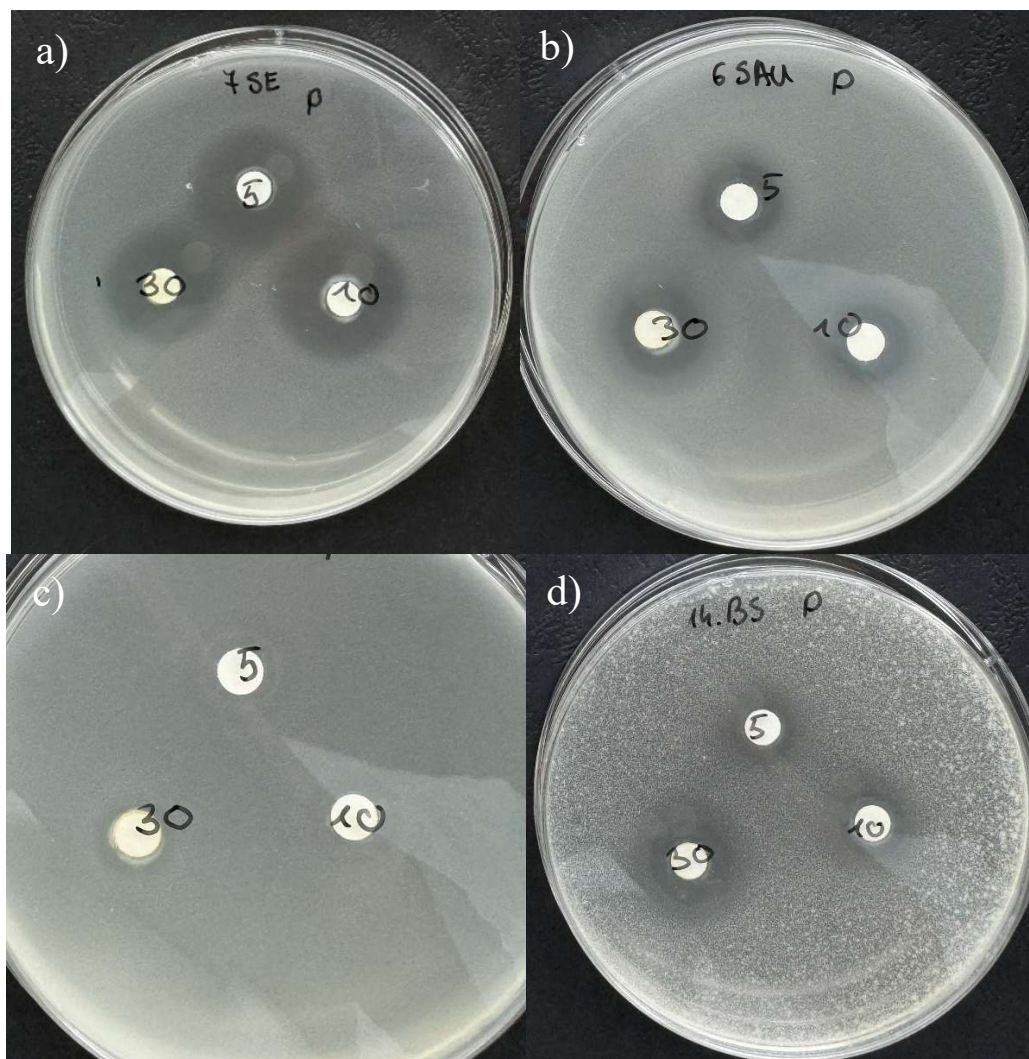
Atlikto tikrojo pačiulio EA antimikrobinio poveikio gramteigiamų ir gramneigiamų bakterijų kultūroms tyrimo rezultatai pateikti 11 lentelėje. Atlikto tyrimo metu nustatyta, kad tikrojo pačiulio EA baktericidiškai veikė visas gramteigiamas bakterijų kultūras. Pagal susidariusių augimo slopinimo zonų dydį išsiskyrė *S. epidermidis*, *B. megaterium* bakterijos, kurių slopinimas buvo stiprus paveikus visomis EA koncentracijomis. Pačiulio EA pasižymėjo ir dviejų gramneigiamų bakterijų augimo slopinimu *S. choleraesuis* ir *S. agona*.

Kaip ir buvo tikėtasi, *P. cablin* EA veikė *S. aureus*, tačiau neparodė baktericidinio poveikio prieš *E. coli* bakterijas, nors yra teigiama, kad tiek grynas EA tiek jo pagrindinės sudedamosios dalys, kaip pačiulio alkoholis slopina *S. aureus* bakterijų augimą [38]. 16 paveiksle pateikiama vaizdinė informacija apie tikrojo pačiulio EA antibakterinį aktyvumą prieš kelias gramteigiamas *S. aureus*, *S. epidermidis*, *B. subtilis* ir vienos gramneigiamos *S. choleraesuis* bakterijų kultūras. Gramneigiamos *S. typhimurium*, *E. coli*, *E. cloacae* bakterijos buvo atsparios tirtu tikrojo pačiulio EA poveikiui.

11 lentelė. Pačiulio EA įtaka bakterijų augimui (slopinimo zona, mm ± standartinis nuokrypis)

Pačiulio EA	Bakterijos augimo slopinimo zona, mm ± standartinis nuokrypis		
Bakterijų padermės	5 %	10 %	30 %
<i>Micrococcus luteus</i>	1,75±0,58	3,50±0,82	4,13±0,96
<i>Staphylococcus aureus</i>	3,50±0,82	4,50±0,00	6,00±0,82
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	6,88±0,50	6,88±0,96	7,88±0,96
<i>Listeria monocytogenes</i>	0,00±0,00	2,63±0,50	4,25±1,29
<i>Bacillus subtilis</i>	2,63±0,50	3,50±0,00	6,00±0,82
<i>Bacillus megaterium</i>	4,38±0,50	6,25±0,58	6,25±0,58
<i>Salmonella choleraesuis</i>	1,13±0,50	2,13±0,96	2,25±1,29
<i>Salmonella agona</i>	1,88±0,96	3,50±0,82	3,50±0,00
<i>Salmonella typhimurium</i>	0,00±0,00	0,00±0,00	0,00±0,00
<i>Escherichia coli</i>	0,00±0,00	0,00±0,00	0,00±0,00
<i>Enterobacter cloacae</i>	0,00±0,00	0,00±0,00	0,00±0,00

Literatūroje aprašomas *P. cablin* EA antimikrobinis poveikis 10 žmogaus patogeninių bakterijų slopinimui, kaip kontrolę naudojant antibiotiką ampiciliną. Tyrimo metu įrodyta, kad EA buvo aktyvesnis prieš gramteigiamas bakterijas nei prieš gramneigiamas bakterijas. Didžiausią inhibicinį poveikį turėjo prieš *Bacillus sp* genties bakterijas. Didžiausia inhibicijos zona buvo 35 mm (prieš *B. cereus*) naudojant 20 µl gryno EA [74]. Šio tyrimo metu taip pat matomas stiprus pačiulio EA poveikis *Bacillus sp.* genties patogenams. Pačiulio EA poveikis prieš *S. aureus* bakterijas aprašytas tyrime, kur jis pasižymėjo bakterijų bioplėvelės susidarymo slopinimu [39].



16 pav. Antibakterinis tikrojo pačiulio EA (lot. *Pogostemon cablin* Benth.) poveikis bakterijų kultūroms a) *S. epidermidis*; b) *S. aureus*; c) *S. choleraesuis*; d) *B. subtilis*

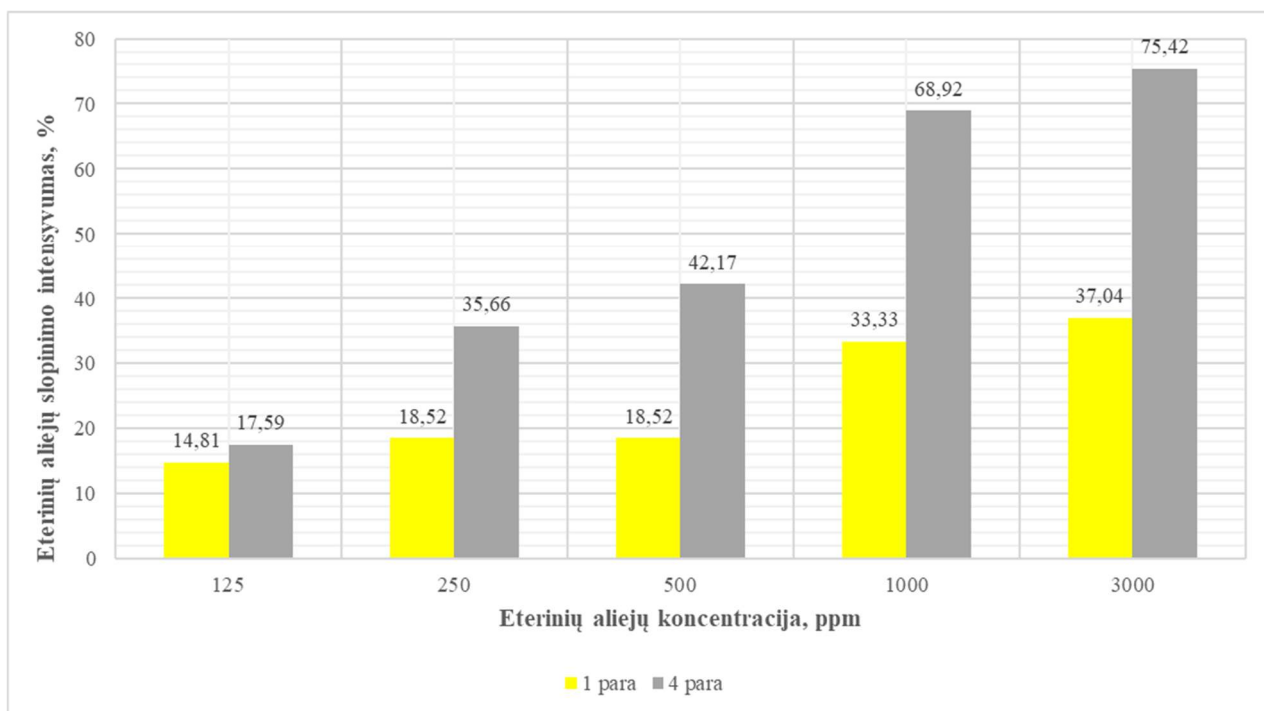
Atlikti tikrojo pačiulio EA antimikrobinio poveikio mielių kultūroms rezultatai pateikiami 12 lentelėje. Atlikto tyrimo metu nustatyta, kad tikrojo pačiulio EA pagal susidariusių augimo slopinimo zonų dydį fungicidiškai veikė *T. delbrueckii*, *P. kluyveri* ir *D. hansenii* mielių kultūras, tačiau poveikis buvo silpnas. *D. hansenii* ir *C. parapsilosis* mielių kultūros buvo atsparios tikrojo pačiulio EA poveikiui, nors L. Galovičová su bendraautoriais [75] savo tyrime analizavo *P. cablin* EA poveikį bakterijoms bei mielėms ir jos tyrimo metu visos tirtos *Candida spp.* mielės pasižymėjo dideliu jautrumu pačiulio EA.

12 lentelė. Pačiulio EA įtaka mielių augimui (slopinimo zona, mm ± standartinis nuokrypis)

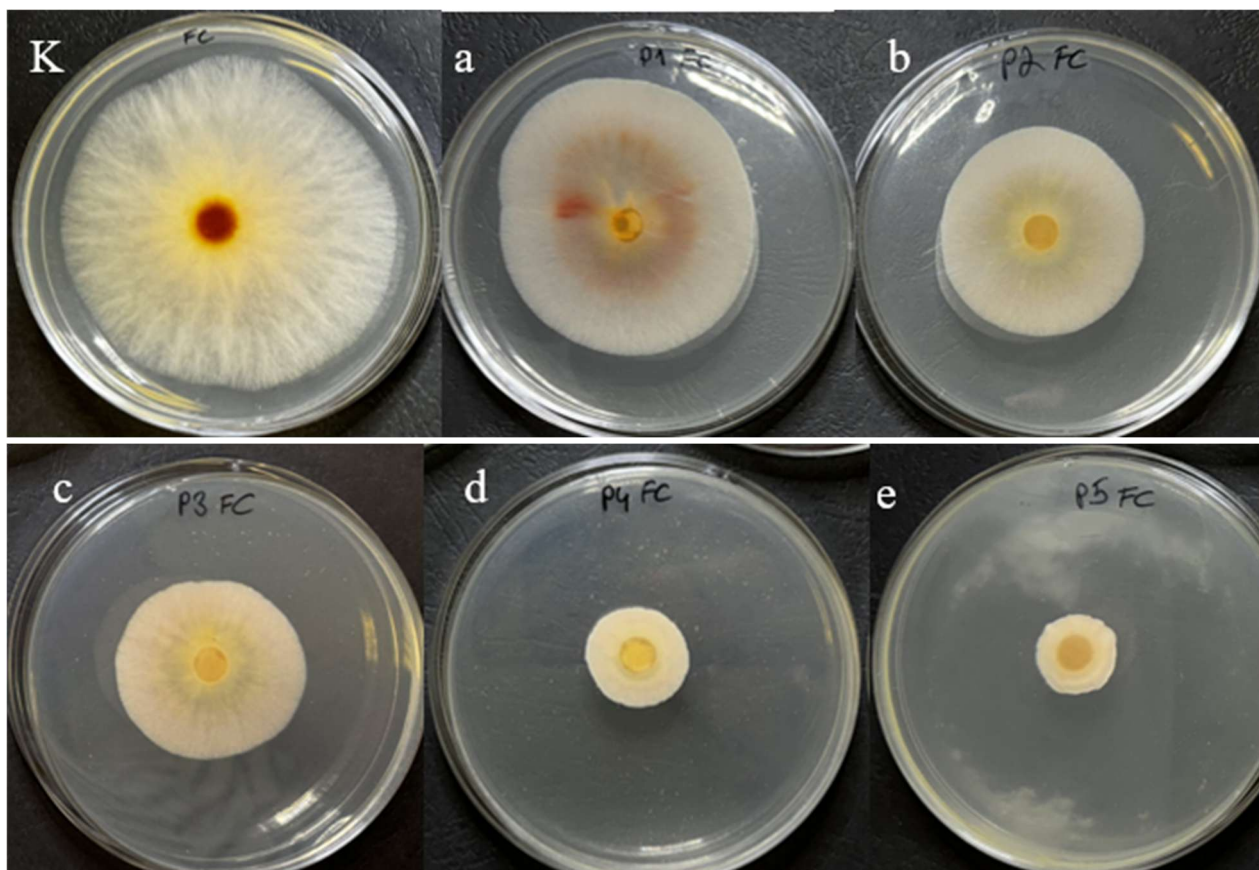
Mielių padermės	Mielių augimo slopinimo zona, mm ± standartinis nuokrypis		
	5 %	10 %	30 %
<i>Rhodotorula rubra</i>	0,00±0,00	0,00±0,00	0,00±0,00
<i>Torulaspora delbrueckii</i>	3,38±0,50	3,75±0,58	4,25±0,58
<i>Pichia kluyveri</i>	2,00±0,82	3,13±0,71	3,38±0,50
<i>Debaryomyces hansenii</i>	1,75±0,58	4,00±0,00	4,25±0,58
<i>Candida parapsilosis</i>	0,00±0,00	0,00±0,00	0,00±0,00

Tolimesniame tyrimo etape tirtas pačiulio EA fungicidinis poveikis prieš *F. graminearum*, *F. culmorum*, *F. solani*, *S. sclerotiorum*, *Acremonium*, *A. alternata* mikroskopinius grybus.

F. culmorum mikroskopinius grybus auginant terpėje su skirtingos koncentracijos eteriniais aliejais nustatyta, kad visose *Petri* lėkštelėse, kuriose terpė buvo papildyta pačiulio (lot. *Pogostemon cablin* Benth.) EA, mikroskopinių grybų augimas buvo slopinamas. Visos tirtos pačiulio EA koncentracijos turėjo stiprų fungicidinį poveikį (18 pav.), lyginant su kontrole, išskyrus veikiant mažiausia 125 ppm koncentracija, kur slopinantis poveikis buvo vidutinis (17 pav.). Pastebėti mikroskopinio grybo micelio spalvos pokyčiai. Pačiulio eterinis aliejus pasižymėjo stipriu fungicidiniu poveikiu visiems *Fusarium spp.* genties mikroskopiniams grybams (žr. 13 lentelę).



17 pav. Tikrojo pačiulio (lot. *Pogostemon cablin* Benth.) eterinio aliejaus poveikis *F. culmorum* augimui



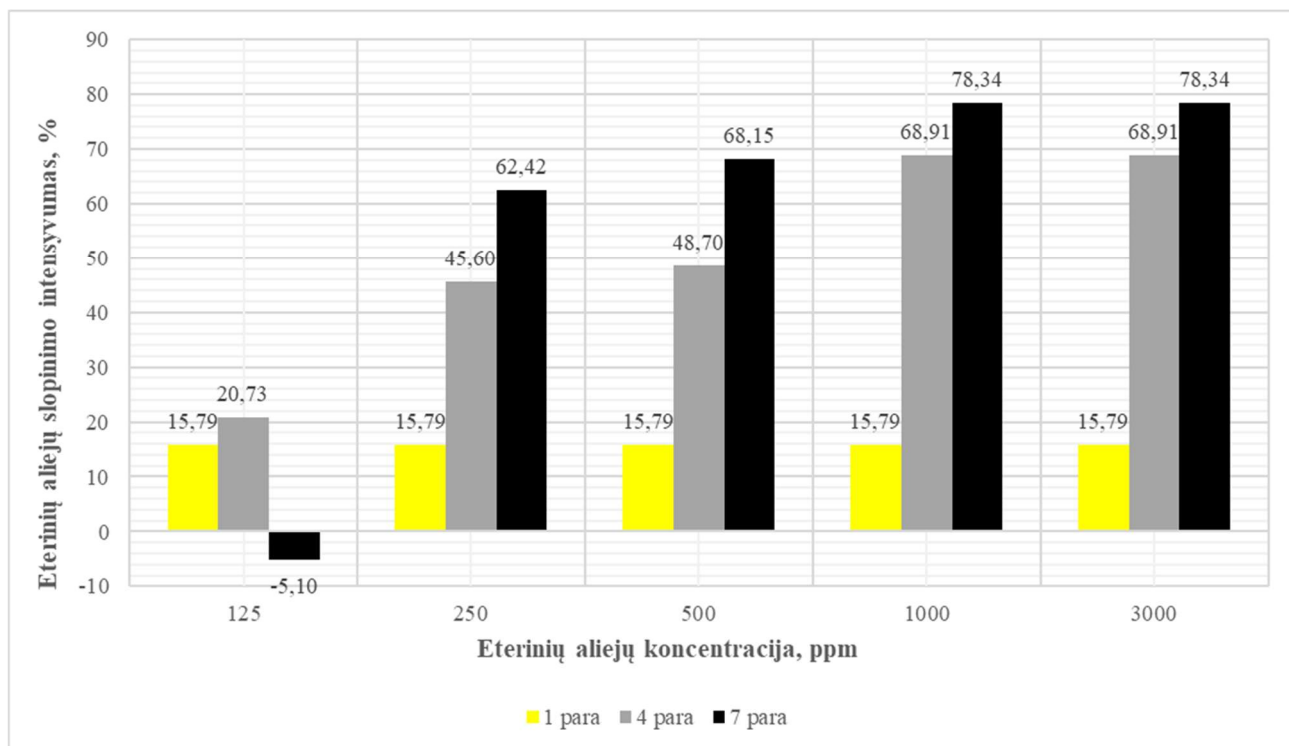
18 pav. *F. culmorum* (FC) mikroskopinio grybo augimas, veikiant tikrojo pačiulio EA: a – 125 ppm; b – 250 ppm; c – 500 ppm; d – 1000 ppm; e – 3000 ppm; K – kontrolė

Nustatyta, kad pačiulio EA slopino *Acremonium sp.* ir *A. alternata* grybų micelio augimą. Esant 1000 ppm pasiektas didžiausias *Acremonium sp.* grybo micelio augimo slopinimas – SK sumažėjo nuo 41,82 iki 62,50. *A. alternata* visos EA koncentracijos slopino vidutiniškai, po 4 paros pastebėtas slopinimo mažėjimas (žr. 13 lentelę).

13 lentelė. Tikrojo pačiulio EA įtaka mikroskopinių grybų augimui, SK

Grybas	Paros	Koncentracija, ppm				
		125	250	500	1000	3000
<i>Acremonium sp.</i>	1	27,27	27,62	34,55	41,82	41,83
	4	25,00	43,24	47,3	59,46	63,51
	7	12,95	39,73	43,75	62,50	67,86
<i>Alternaria alternata</i>	1	23,08	26,92	26,92	38,46	38,46
	4	25,62	34,30	38,02	47,93	49,17
	7	15,68	27,03	35,95	44,86	46,49
<i>Fusarium graminearum</i>	1	16,00	16,00	16,00	28,00	36,00
	4	19,29	29,29	40,00	57,17	74,29
<i>Fusarium solani</i>	1	22,22	25,93	33,33	40,74	41,74
	4	24,32	34,23	40,54	52,25	53,15

S. sclerotiorum mikroskopinius grybus auginant terpėje su skirtingos koncentracijos EA nustatyta, kad visose Petri lėkštelėse, kuriose terpė buvo papildyta pačiulio (lot. *Pogostemon cablin* Benth.) EA, mikroskopinių grybų augimas buvo slopinamas. Visos tirtos pačiulio EA koncentracijos turėjo stiprų fungicidinį poveikį (19 pav.), lyginant su kontrole, išskyrus veikiant mažiausia 125 ppm koncentracija, kur slopinantis poveikis buvo vidutinis, o po 4 parų slopinimo nebeliko. Maža eterinio aliejaus koncentracija skatino grybo augimą.



19 pav. Tikrojo pačiulio (lot. *Pogostemon cablin* Benth.) eterinio aliejaus poveikis *S. sclerotiorum* grybo augimui

3.6.2. Apelsininio citrinmedžio eterinio aliejaus antimikrobinio aktyvumo įvertinimas

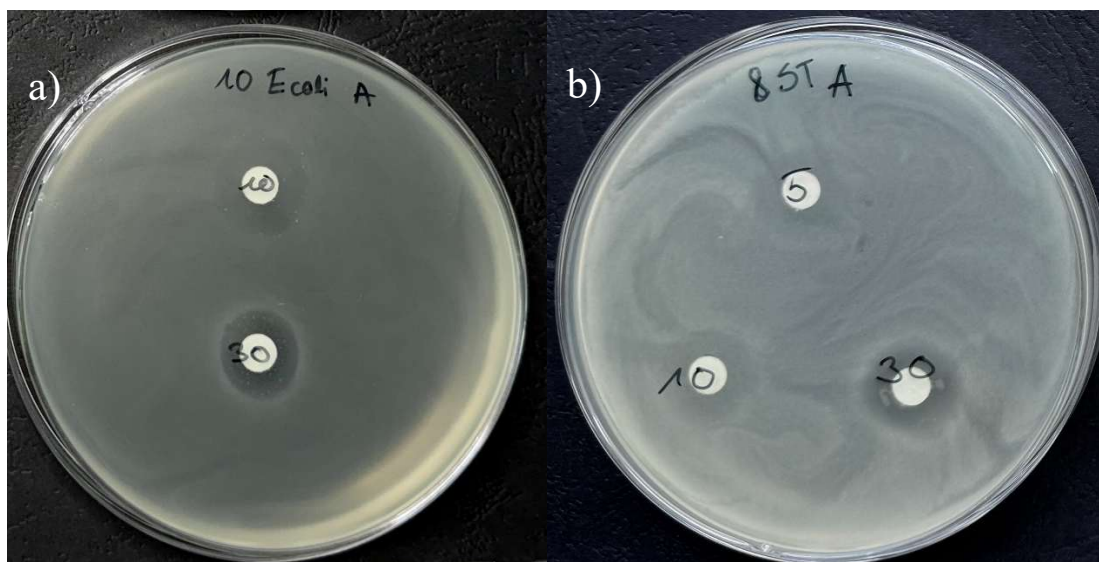
Atlikto tyrimo rezultatai su apelsininio citrinmedžio EA gramteigiamoms ir gramneigiamoms bakterijų kultūroms pateikiami 14 lentelėje. Visos tirtos bakterijos buvo paveiktos 1 %, 5 % ir 10 % EA koncentracijomis. Su tomis bakterijomis, kurių neslopino EA, bandymas buvo pakartotas naudojant 30 % EA koncentraciją. Iš rezultatų matyti, kad *M. luteus* slopinimas nebuvo užfiksuotas – tai reiškia per mažą eterinio aliejaus koncentraciją šio mikroorganizmo slopinimui.

Atlikto tyrimo metu nustatyta, kad apelsininis citrinmedis EA baktericidiškai veikė visas gramneigiamas bakterijų kultūras. Pagal susidariusių augimo slopinimo zonų dydį išsiskyrė *Salmonella spp.* bakterijos, kurios buvo jautrios visomis EA koncentracijomis. Antibakterinis apelsininio citrinmedžio EA poveikis *E. coli* ir *S. typhimurium* pateiktas 20 paveiksle. Šis eterinis aliejus pasižymėjo ir kelių gramteigiamų bakterijų slopinimu, tačiau slopinimas buvo mažesnis nei gramneigiamų bakterijų. Iš gramteigiamų bakterijų išsiskiria *S. aureus*, kurį slopino 1 % apelsininio citrinmedžio EA koncentracija.

14 lentelė. Apelsininio citrinmedžio EA įtaka bakterijų augimui (slopinimo zona, mm ± standartinis nuokrypis)

	Bakterijos augimo slopinimo zona, mm ± standartinis nuokrypis			
Bakterijų padermės	1 %	5 %	10 %	30 %
<i>Micrococcus luteus</i>	0,00±0,00	0,00±0,00	0,00±0,00	0,00±0,00
<i>Staphylococcus aureus</i>	2,50±0,00	3,25±0,58	3,25±0,58	-
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	0,00±0,00	0,00±0,00	3,00±1,41	-
<i>Listeria monocytogenes</i>	0,00±0,00	0,00±0,00	0,00±0,00	3,75 ± 0,71
<i>Bacillus subtilis</i>	0,00±0,00	0,00±0,00	0,88±1,26	-
<i>Bacillus megaterium</i>	1,00±0,71	1,00±0,71	1,00±0,71	-
<i>Salmonella choleraesuis</i>	3,50±0,82	3,13±1,71	3,50±0,71	-
<i>Salmonella agona</i>	3,38±0,96	4,00±0,00	4,75±0,71	-
<i>Salmonella typhimurium</i>	0,00±0,00	2,25±1,29	3,50±0,00	4,25±1,29
<i>Escherichia coli</i>	3,75±0,58	3,88±0,96	4,38±0,96	4,25±0,71
<i>Enterobacter cloacae</i>	2,38±0,50	3,38±0,96	3,50±0,00	4,00±0,00

Dauguma tyrimų aprašo *C. sinensis* EA, pasižyminčiu geru antimikrobiniu poveikiu prieš gramteigiamas bakterijas. Tačiau yra pastebėta, kad *C. sinensis* EA antimikrobinis aktyvumas skiriasi, priklausomai nuo augalo išsivystymo stadijos išgavimo metu. Palyginus EA esančių junginių koncentracijas limonenas nesikeitė priklausomai nuo brandos stadijos, tačiau junginiai, kurių buvo mažai, turėjo įtakos rezultatams, todėl buvo patvirtinta, kad eterinio aliejaus slopinamasis poveikis yra paremtas jo skirtingų sudedamųjų dalių sąveikos rezultatas, kuris gali sukelti adityvų, sinergetinį arba antagonistinį poveikį [76]. T. Ngan'o ir kt. [77] pateikia panašius duomenis, kai *C. sinensis* turėjo antibakterinį poveikį prieš *Bacillus cereus*, tačiau jokio antibakterinio EA poveikio nebuvo kitoms tirtoms gramteigiamoms ir gramneigiamoms bakterijoms.

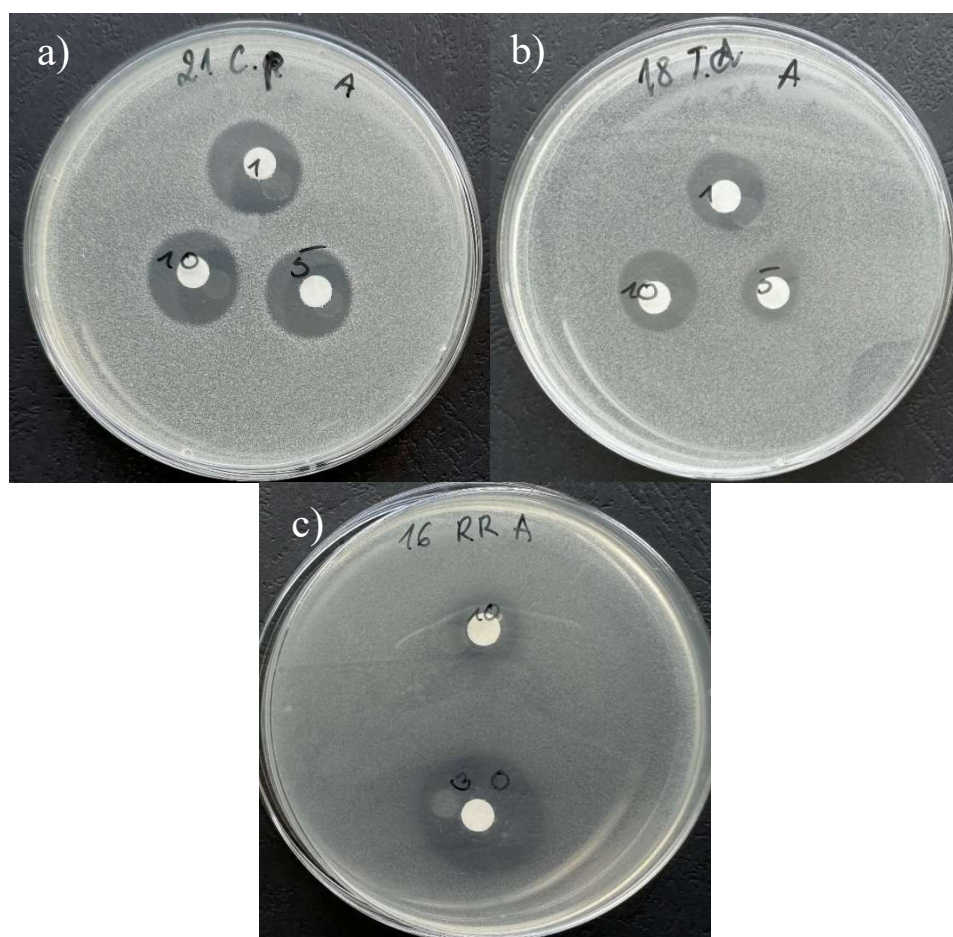


20 pav. Antibakterinis apelsininio citrinmedžio EA (lot. *Citrus sinensis* L.) poveikis bakterijų kultūroms a) *E. coli*; b) *S. typhimurium*

Atlikto tyrimo rezultatai su apelsininio citrinmedžio EA mielių kultūroms pateikti 15 lentelėje. Atlikto tyrimo metu nustatyta, kad *C. sinensis* EA pagal susidariusių augimo slopinimo zonų dydį fungicidiškai veikė visas tirtas mielių kultūras, augimo slopinimas pavaizduotas 21 paveiksle. EA, kurio koncentracija 1 % pasižymėjo stipriausiu slopinimu *Debaryomyces hansenii* mielių kultūrai.

15 lentelė. Apelsininio citrinmedžio EA įtaka mielių augimui (slopinimo zona, mm ± standartinis nuokrypis)

Mielių padermės	Mielių augimo slopinimo zona, mm ± standartinis nuokrypis			
	1 %	5 %	10 %	30 %
<i>Rhodotorula rubra</i>	2,75±0,58	2,25±1,29	3,25±1,29	8,38±1,50
<i>Torulaspora delbrueckii</i>	3,75±0,58	2,00±1,41	4,25±0,71	-
<i>Pichia kluyveri</i>	2,63±0,96	2,50±0,00	4,00±0,00	-
<i>Debaryomyces hansenii</i>	10,25±1,91	10,38±2,22	11,00±2,94	-
<i>Candida parapsilosis</i>	5,50±0,82	5,00±0,82	6,00±0,82	-



21 pav. Fungicidinis apelsininio citrinmedžio EA (lot. *Citrus sinensis* L.) poveikis mielių kultūroms a) *C. parapsilosis*; b) *T. delbrueckii*; c) *R. rubra*

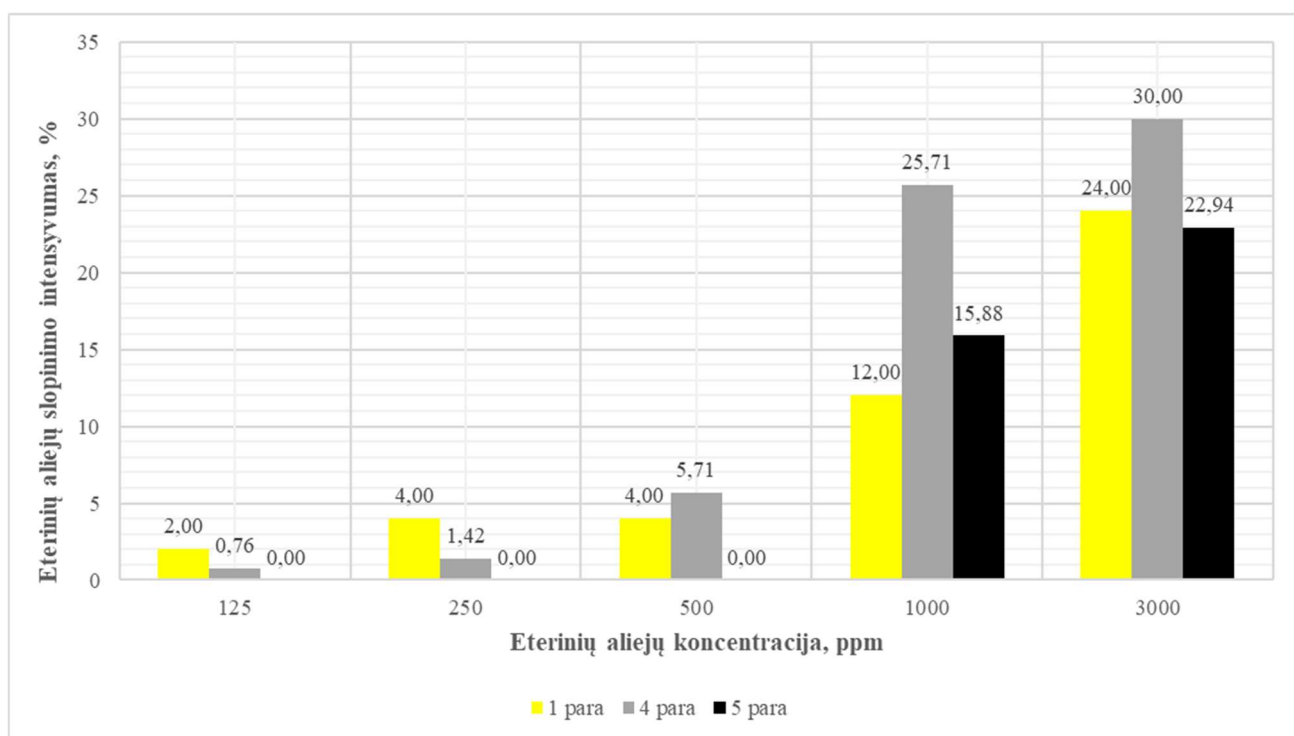
Tolimesniame tyrimo etape buvo tiriamas apelsininio citrinmedžio EA fungicidinis poveikis prieš *F. graminearum*, *F. culmorum*, *F. solani*, *S. sclerotiorum*, *Acremonium* sp., *A. alternata* mikroskopinius grybus. Apelsininio citrinmedžio EA pasižymėjo slopinamu poveikiu *S. sclerotiorum*, *A. alternata* ir dviem *Fusarium* spp. mikroskopiniams grybams (žr. 16 lentelę). *F. graminearum* slopinimas apelsino EA pavaizduotas grafiškai (22 pav.) ir vaizdiškai (23 pav.).

16 lentelė. Apelsininio citrinmedžio EA įtaka mikroskopinių grybų augimui, SK

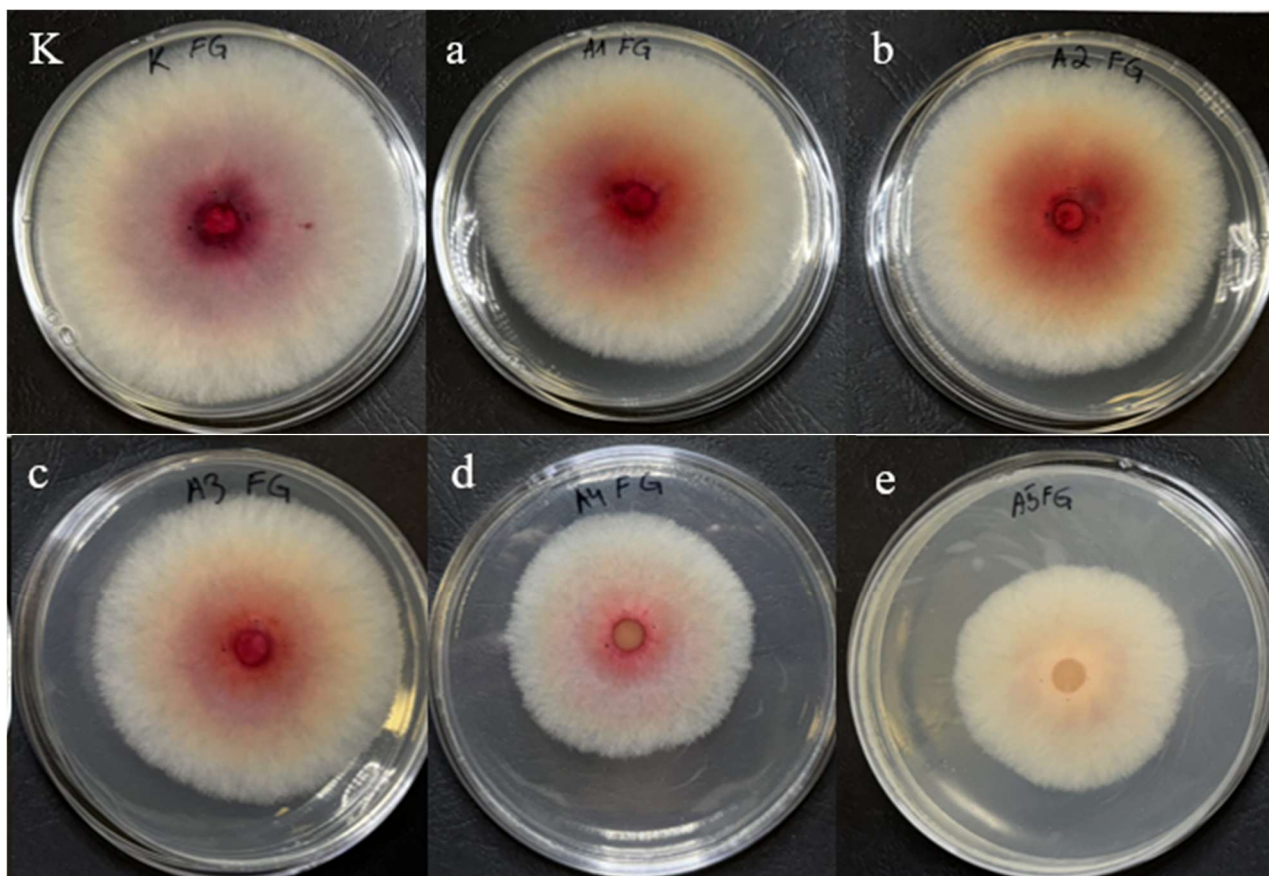
Grybas	Paros	Koncentracija, ppm				
		125	250	500	1000	3000
<i>Alternaria alternata</i>	1	3,85	3,85	3,85	7,69	23,08
	4	4,50	5,41	5,41	13,51	24,32
<i>Fusarium culmorum</i>	1	0,00	0,00	3,70	7,41	22,22
	4	1,69	10,36	11,08	26,27	27,71
<i>Fusarium solani</i>	1	3,70	3,70	7,41	14,81	33,33
	4	-4,50	-0,90	2,70	8,11	14,41
<i>Sclerotinia sclerotiorum</i>	1	15,79	15,79	15,79	15,79	15,79
	4	34,72	39,38	37,82	45,60	48,70
	7	8,50	31,37	58,82	60,78	67,97

S. Madhuri ir kt. [45] atliktame tyrime nagrinėjo iš žievelių *C. sinensis* ir karčiavaisio citrinmedžio (lot. *C. aurantium*) gautų ekstraktų fungicidinį poveikį. Nustatyta, kad *C. aurantium* ekstraktas turėjo stipresnį fungicidinį poveikį nei *C. sinensis*, tačiau *C. sinensis* turi stiprų slopinamąjį poveikį *Fusarium sp.* mikroskopiniams grybams. *C. sinensis* žievelių eterinis aliejus, kurio pagrindinė sudedamoji dalis yra limonenas (98,54 %), 3000 ppm EA koncentracijoje slopino *S. sclerotiorum* mikroskopinio grybo augimą (65,82 %), šio tyrimo metu stiprus fungicidinis poveikis *S. sclerotiorum* pasireiškė 500 ppm koncentracijoje [78].

Tyrimų metu paaiškėjo, kad apelsininio citrinmedžio EA turėjo vidutinį slopinimą *F. graminearum* mikroskopinius grybus auginant terpėje su skirtingomis EA koncentracijomis. Nustatyta, kad visose Petri lėkštelėse, kuriose į terpę buvo įpilta apelsininio citrinmedžio (lot. *Citrus sinensis* L.) EA, mikroskopinių grybų augimas buvo slopinamas, EA turėjo fungicidinį poveikį (23 pav.), tačiau, lyginant su kontrole, vidutinį slopinantį poveikį turėjo tik didesnės šio EA koncentracijos. Veikiant mažesnėmis 125 ppm, 250 ppm ir 500 ppm EA koncentracijomis mikroskopinių grybų slopinimas buvo mažas (22 pav.). Tyrimo eigoje po 4 paros buvo matomas fungicidinio poveikio sumažėjimas, slopinimas išliko tik paveikus didelėmis EA koncentracijomis. Esant didžiausiai eterinio aliejaus koncentracijai (3000 ppm), pelėsinio grybo spalva labiausiai išbluko, micelis prarado būdingą pigmento spalvą.



22 pav. Apelsininio citrinmedžio (lot. *Citrus sinensis* L.) EA poveikis *F. graminearum* grybo augimui



23 pav. *F. graminearum* (FG) mikroskopinio grybo augimas, veikiant apelsininio citrinmedžio EA: a – 125 ppm; b – 250 ppm; c – 500 ppm; d – 1000 ppm; e – 3000 ppm; K – kontrolė

3.6.3. Teksaso kedro eterinio aliejaus antimikrobinio aktyvumo įvertinimas

Atlikti Teksaso kedro EA antimikrobinio poveikio gramteigiamų ir gramneigiamų bakterijų kultūroms tyrimo rezultatai pateikti 17 lentelėje. Atlikto tyrimo metu nustatyta, kad Teksaso kedro EA slopino gramteigiamas bakterijų kultūras, tačiau poveikis buvo silpnas. Pagal susidariusių augimo slopinimo zonų dydį išsiskyrė *S. epidermidis*, *B. megaterium* bakterijos, tačiau jų augimą baktericidiškai veikė tik didžiausia 30 % EA koncentracija (24 pav.). Nustatyta, kad visos šio tyrimo metu tirtos mielių kultūros (*R. rubra*, *T. delbrueckii*, *P. kluyveri*, *D. hansenii*, *C. parapsilosis*) buvo atsparios visoms tirtoms Teksaso kedro EA koncentracijoms.

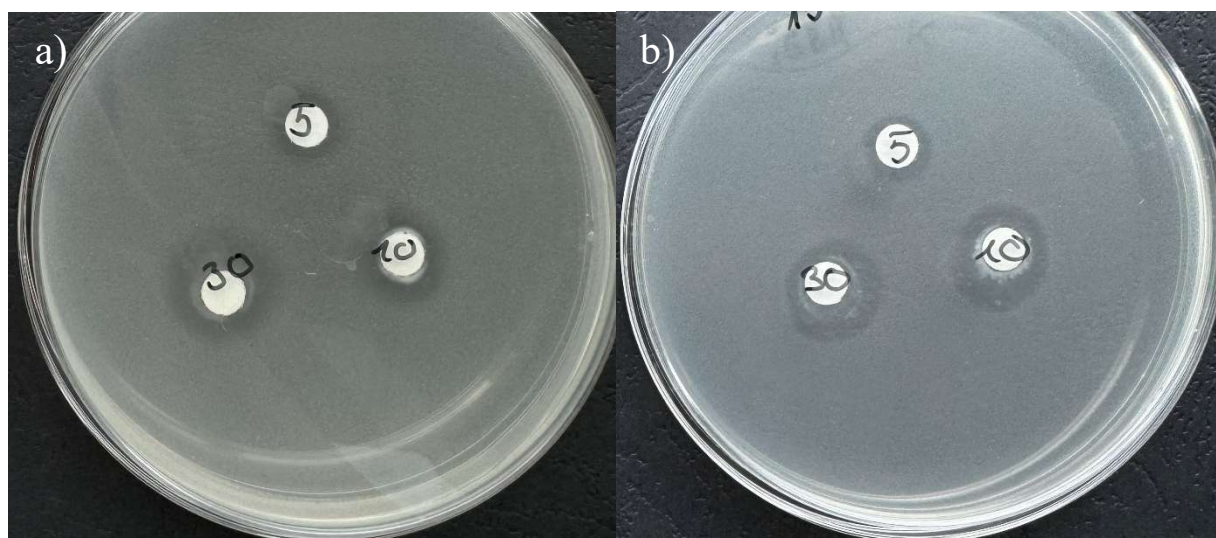
Panašius rezultatus aprašė ir D. Ivanova ir kt. [79] – atliktame tyrime tyrė septynių *Juniperus spp.* genties rūšių ekstraktų antimikrobinį aktyvumą prieš gramteigiamų, gramneigiamų bakterijų kultūras ir *Candida spp.* mielių kultūras. Tyrimo metu nustatyta, kad *J. ashei* ekstraktai turėjo labai silpną poveikį gramneigiamoms bakterijoms ir visoms mielių kultūroms. Tyrimo metu *J. ashei* didžiausią slopinamąjį poveikį turėjo *Staphylococcus spp.* ir *Bacillus spp.* bakterijų kultūroms.

17 lentelė. Kedro EA įtaka bakterijų augimui (slopinimo zona, mm ± standartinis nuokrypis)

Kedro EA	Bakterijos augimo slopinimo zona, mm ± standartinis nuokrypis		
Bakterijų padermės	5 %	10 %	30 %
<i>Micrococcus luteus</i>	1,25±0,58	1,25±0,58	2,13±0,50
<i>Staphylococcus aureus</i>	1,00±0,00	1,88±0,96	2,88±0,96

17 lentelės tęsinys

Kedro EA	Bakterijos augimo slopinimo zona, mm $\pm$ standartinis nuokrypis		
Bakterijų padermės	5 %	10 %	30 %
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	2,13 $\pm$ 0,50	2,75 $\pm$ 1,29	4,63 $\pm$ 0,96
<i>Listeria monocytogenes</i>	0,00 $\pm$ 0,00	0,00 $\pm$ 0,00	0,00 $\pm$ 0,00
<i>Bacillus subtilis</i>	1,38 $\pm$ 0,96	3,63 $\pm$ 0,96	3,63 $\pm$ 1,26
<i>Bacillus megaterium</i>	1,50 $\pm$ 1,41	3,50 $\pm$ 0,82	4,38 $\pm$ 0,96
<i>Salmonella choleraesuis</i>	0,00 $\pm$ 0,00	2,88 $\pm$ 0,96	2,63 $\pm$ 0,96
<i>Salmonella agona</i>	1,63 $\pm$ 0,50	1,63 $\pm$ 0,96	1,75 $\pm$ 0,58
<i>Salmonella typhimurium</i>	0,00 $\pm$ 0,00	0,00 $\pm$ 0,00	0,00 $\pm$ 0,00
<i>Escherichia coli</i>	0,00 $\pm$ 0,00	0,00 $\pm$ 0,00	0,00 $\pm$ 0,00
<i>Enterobacter cloacae</i>	0,00 $\pm$ 0,00	0,00 $\pm$ 0,00	0,00 $\pm$ 0,00



24 pav. Antibakterinis Teksaso kedro EA (lot. *J. mexicana* Schiede.) poveikis bakterijų kultūroms a) *S. epidermidis*; b) *B. megaterium*

Tolimesniame tyrimo etape buvo tiriamas *J. mexicana* fungicidinis poveikis prieš *F. graminearum*, *F. culmorum*, *F. solani*, *S. sclerotiorum*, *Acremonium* sp. ir *A. alternata* mikroskopinius grybus. *J. mexicana* pasižymėjo stipriu slopinamu poveikiu *Fusarium* spp. mikroskopiniams grybams, kitus mikroskopinius grybus slopino vidutiniškai (žr. 18 lentelę).

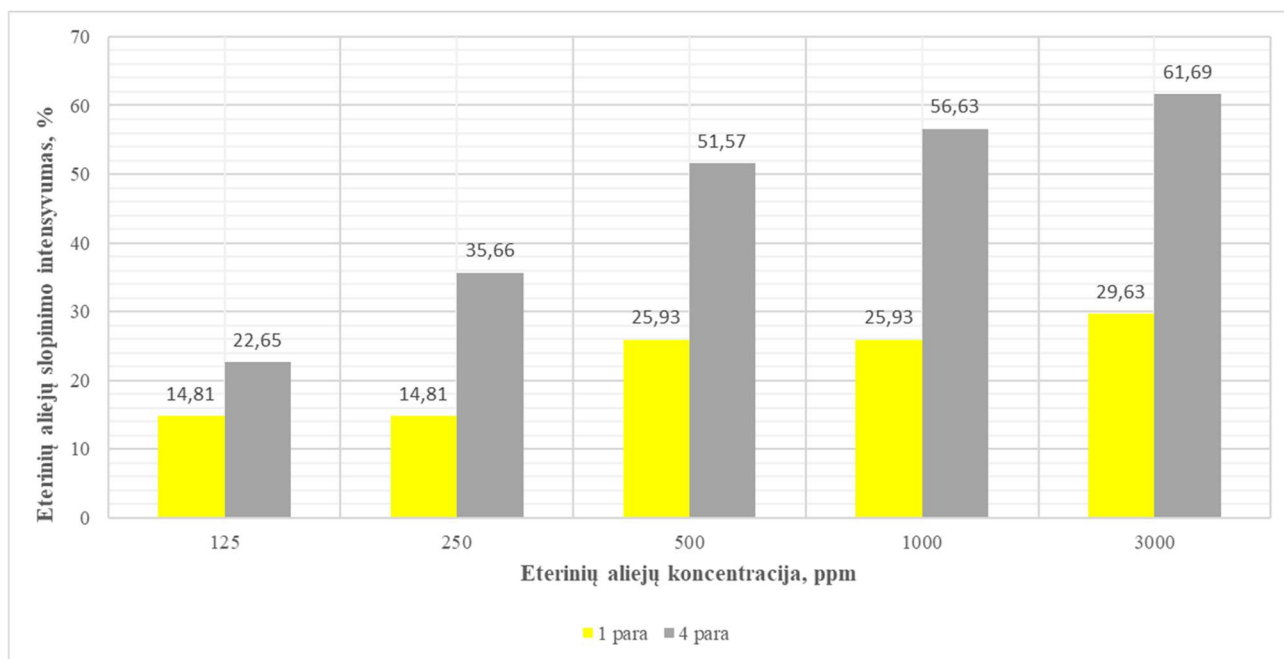
18 lentelė. Teksaso kedro EA įtaka mikroskopinių grybų augimui, SK

Grybas	Paros	Koncentracija, ppm				
		125	250	500	1000	3000
<i>Alternaria alternata</i>	1	19,23	15,38	23,08	19,23	30,77
	4	8,26	15,70	23,14	24,38	38,02
<i>Fusarium solani</i>	1	3,70	14,81	22,22	22,22	40,74
	4	13,51	18,02	33,33	34,63	43,24

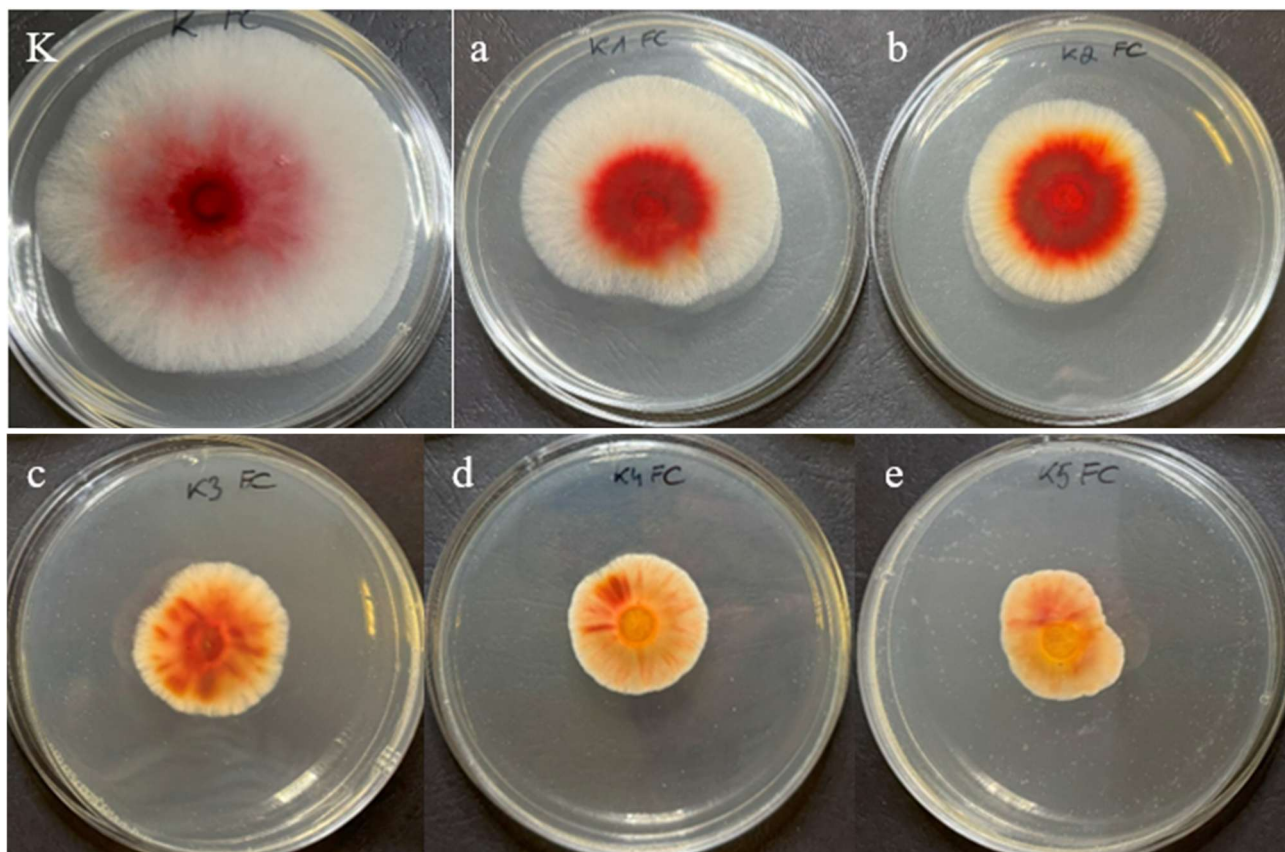
18 lentelės tęsinys

Grybas	Paros	Koncentracija, ppm				
		125	250	500	1000	3000
<i>Fusarium graminearum</i>	1	20,00	16,00	16,00	20,00	36,00
	4	22,14	31,43	32,86	44,29	68,57
<i>Sclerotinia sclerotiorum</i>	1	15,79	15,79	15,79	15,79	15,79
	4	15,03	17,62	16,06	11,40	34,72
<i>Acremonium sp.</i>	1	12,73	12,73	12,73	20,00	27,27
	4	6,76	8,78	14,86	21,92	37,16

F. culmorum mikroskopinius grybus auginant terpėje su skirtingos koncentracijos kedro eteriniais aliejais nustatyta, kad visose *Petri* lėkštelėse, kuriose terpė buvo papildyta kedro EA, mikroskopinių grybų augimas buvo slopinamas. Visos tirtos kedro EA koncentracijos turėjo stiprų fungicidinį poveikį (26 pav.), lyginant su kontrole, išskyrus veikiant mažiausiomis 125 ppm ir 250 ppm koncentracijomis, kur slopinantis poveikis buvo vidutinis (25 pav.). Pastebėti mikroskopinio grybo micelio spalvos pokyčiai. Nustatyta, kad Teksaso kedro EA pasižymėjo stipriu fungicidiniu poveikiu visiems *Fusarium spp.* genties mikroskopiniams grybams.



25 pav. Teksaso kedro (lot. *J. mexicana* Schiede.) eterinio aliejaus poveikis *F. culmorum* grybo augimui



26 pav. *F. culmorum* (FC) mikroskopinio grybo augimas, veikiant Teksaso kedro EA: a – 125 ppm; b – 250 ppm; c – 500 ppm; d – 1000 ppm; e – 3000 ppm; K – kontrolė

3.7. Alternatyvaus valiklio antimikrobinio aktyvumo įvertinimas

Išanalizavus gautus antimikrobinis Teksaso kedro (lot. *J. mexicana* Schiede.), apelsininio citrinmedžio (lot. *Citrus sinensis* L.) ir tikrojo pačiulio (lot. *Pogostemon cablin* Benth.) EA rezultatus, nuspręsta dėl silpno Teksaso kedro antibakterinio poveikio, tolimesniems tyrimams naudoti tik tikrojo pačiulio ir apelsininio citrinmedžio EA. Taip pat atsižvelgta į pasirinktų eterinių aliejų antibakterinį ir fungicidinį poveikį patogenams ir nuspręsta tolimesnius tyrimus atlikti su gramteigiamomis bakterijomis (*M. luteus*, *S. aureus*, *S. epidermidis*, *L. monocytogenes*, *B. subtilis*, *B. megaterium*), mielių kultūromis (*T. delbrueckii*, *P. kluyveri*, *D. hansenii*, *C. parapsilosis*) ir mikroskopinių grybų (*F. graminearum*, *F. culmorum*, *F. solani*, *S. sclerotiorum*) kultūromis.

Išanalizavus literatūrą tolimesniems tyrimams ir valiklio gamybai buvo pasirinktos šios PAM:

- natrio laurilo eterio sulfatas (SLES) 70% (Leurochem, Lietuva);
- koko gliukozidas 50% (Leurochem, Lietuva).

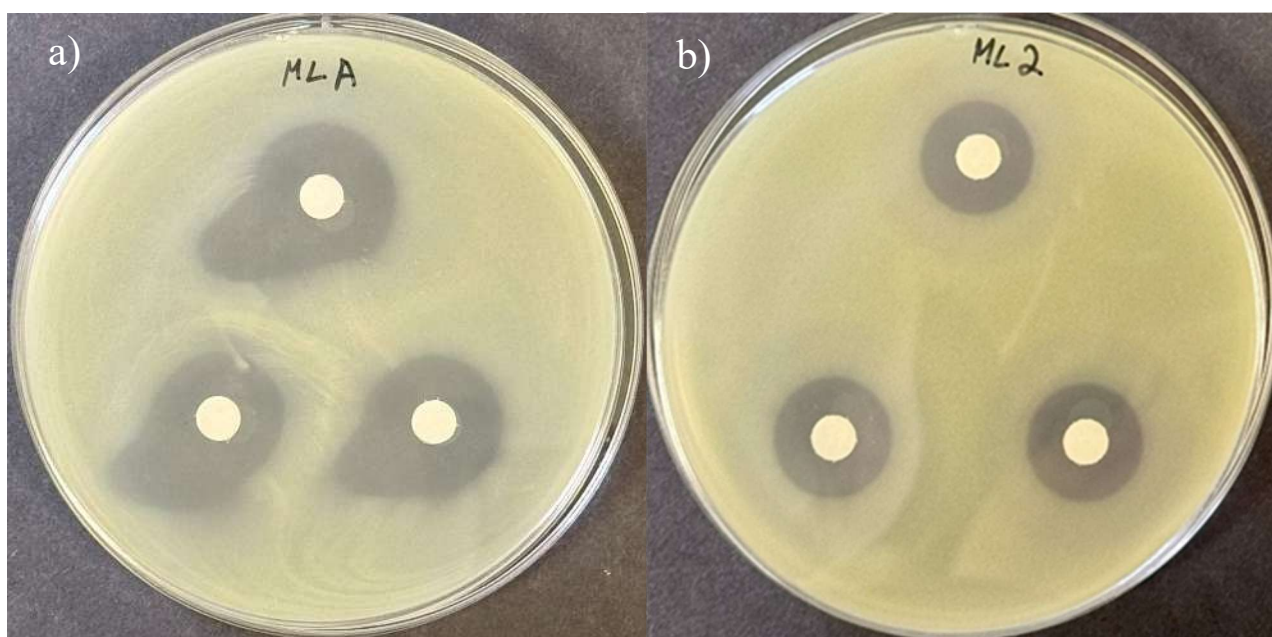
Atlikti visų pagamintų valiklių antimikrobinio poveikio gramteigiamų bakterijų ir mielių kultūroms tyrimo rezultatai pateikti lentelėse (žr. 19 ir 20 lenteles).

Atlikto tyrimo metu pastebėta, kad valiklyje esančios joninės ir anijoninės medžiagos padidino pačiulio ir apelsino EA slopinantį poveikį patogenams. Nustatyta, kad apelsino EA + valiklis turėjo didesnę poveikį bakterijų kultūrų slopinimui. Stipriai išsiskyrė poveikis *M. luteus* ir *S. aureus* bakterijų kultūroms, kurių grynas apelsininio citrinmedžio EA neslopino arba veikė silpnai, tačiau veikiant kartu su valikliu, šių bakterijų jautrumas padidėjo (27 pav.). Pačiulio EA + valiklis nepasizymėjo geresnėmis slopinančiomis savybėmis. Valiklis su pačiulio ir apelsino EA priedu

slopino visas bakterijų padermes, tačiau tyrimų metu pastebėta, kad apelsino EA + valiklis bakterijas slopino stipriau ir tik šis EA galimai lėmė didesnę pačiulio EA + apelsino EA + valiklio poveikį.

19 lentelė. Valiklių įtaka bakterijų augimui (slopinimo zona, mm ± standartinis nuokrypis)

Bakterijų padermės	Bakterijos augimo slopinimo zona, mm ± standartinis nuokrypis			
	Pačiulio EA + valiklis	Apelsino EA + valiklis	Pačiulio EA + apelsino EA + valiklis	Valiklis be EA
<i>Micrococcus luteus</i>	4,58 ± 1,47	7,67 ± 4,27	6,42 ± 5,15	4,25 ± 0,55
<i>Staphylococcus aureus</i>	4,42 ± 1,47	5,08 ± 1,94	5,00 ± 0,63	4,17 ± 1,21
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	5,83 ± 2,07	7,42 ± 3,60	6,58 ± 2,04	4,17 ± 1,21
<i>Listeria monocytogenes</i>	4,08 ± 0,98	4,42 ± 0,75	4,50 ± 0,63	3,67 ± 1,63
<i>Bacillus subtilis</i>	9,50 ± 2,37	9,67 ± 3,33	9,83 ± 1,86	7,83 ± 0,82
<i>Bacillus megaterium</i>	3,83 ± 0,82	3,83 ± 1,03	4,08 ± 1,72	2,42 ± 1,17



27 pav. Antibakterinis valiklių poveikis *M. luteus* bakterijų kultūroms a) Apelsino EA + valiklis; b) valiklis be EA

Tiriamieji valikliai su EA priedais mielių kultūroms didesniu fungicidiniu poveikiu nepasižymėjo, tačiau pastebėta, kad padidėjo pačiulio EA + valiklio slopinamasis poveikis *D. hansenii* mieliagybiui ir tai galimai lėmė didesnę bendro pačiulio EA + apelsino EA + valiklio poveikį (žr. 20 lentelę).

20 lentelė. Valiklių įtaka mielių augimui (slopinimo zona, mm ± standartinis nuokrypis)

	Mielės augimo slopinimo zona, mm ± standartinis nuokrypis			
Mielės	Pačiulio EA + valiklis	Apelsino EA + valiklis	Pačiulio EA + apelsino EA + valiklis	Valiklis be EA
<i>Torulaspora delbrueckii</i>	2,08 ± 1,17	3,50 ± 1,90	3,50 ± 1,10	1,92 ± 0,75
<i>Pichia kluyveri</i>	3,33 ± 0,52	3,25 ± 0,84	4,50 ± 1,26	2,42 ± 0,75
<i>Debaryomyces hansenii</i>	9,67 ± 2,58	7,58 ± 2,64	9,50 ± 1,41	7,67 ± 1,21
<i>Candida parapsilosis</i>	4,50 ± 1,79	7,50 ± 1,41	7,83 ± 2,16	3,33 ± 1,03

Atlikus tyrimą su mikroskopiniais grybais didesnis tiriamųjų valiklių slopinamasis poveikis nebuvo nustatytas. Slopinimas išliko toks pats arba sumažėjo (žr. 21 lentelę).

Norint sužinoti ar joninės ir anijoninės medžiagos neturi įtakos mikroorganizmams slopinti, kaip kontrolinis variantas naudotas pagamintas valiklis be EA priedų. Visų tyrimų metu valiklis be EA turėjo antimikrobinį poveikį, tačiau visais atvejais ir su visais mikroorganizmais pasižymėjo silpnu arba mažesniu poveikiu, nei valikliai su EA priedais. Šių tyrimų rezultatai rodo, kad paviršiaus aktyviosios medžiagos padeda EA geriau pasiskirstyti fazėje, sinergiškai padidina slopinimą.

21 lentelė. Valiklių įtaka mikroskopinių grybų augimui (slopinimo zona, mm ± standartinis nuokrypis)

	Mikroskopinių grybų augimo slopinimo zona (mm ± standartinis nuokrypis)							
Grybai	Pačiulio EA + valiklis		Apelsino EA + valiklis		Pačiulio EA + apelsino EA + valiklis		Valiklis be EA	
	1000	3000	1000	3000	1000	3000	1000	3000
<i>Fusarium solani</i>	12,65 ± 0,98	18,67 ± 0,55	10,24 ± 1,33	15,06 ± 1,22	8,43 ± 0,52	16,27 ± 0,75	12,05 ± 1,51	10,84 ± 1,03
<i>Fusarium culmorum</i>	9,27 ± 2,50	28,57 ± 0,55	12,28 ± 2,07	11,78 ± 3,44	2,76 ± 2,34	16,04 ± 0,75	6,77 ± 2,10	15,29 ± 1,75
<i>Fusarium graminearum</i>	1,14 ± 2,75	34,09 ± 2,16	5,97 ± 0,75	10,80 ± 3,98	2,56 ± 1,83	4,55 ± 2,37	1,14 ± 4,38	2,56 ± 1,47
<i>Sclerotinia sclerotiorum</i>	49,80 ± 4,08	72,16 ± 4,93	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	2,75 ± 3,61	35,88 ± 9,71	5,10 ± 3,83	7,84 ± 7,53

Rekomendacijos

1. Nors laboratoriniai tyrimai parodė eterinių aliejų gebėjimą slopinti patogenų augimą, reikėtų atlikti papildomus tyrimus realiomis sąlygomis ant skirtingų paviršių.
2. Rekomenduojama atlikti papildomus skirtingų augalinės kilmės paviršinių aktyvumo medžiagų įtakos tyrimus patogenų gyvybingumo slopinimui nustatyti.
3. Skirtingų eterinių aliejų biologinio aktyvumo tyrimai rodo, kad būtini tolesni visapusiški tyrimai, siekiant ištirti ir kitus potencialiai perspektyvius eterinius aliejus. Kiekvienas eterinis aliejus turi unikalią cheminę sudėtį, todėl galima atrasti sinerginiu poveikiu pasižyminčius junginius, kurie padidintų jų antimikrobinį aktyvumą.
4. Rekomenduojama skirti dėmesio ilgalaikiams valiklių kūrimo ir tyrimo procesams, kuriuose būtų vertinamas veiksmingumas bei saugumas įvairiose aplinkose – nuo namų iki sveikatos priežiūros įstaigų ir komercinių patalpų.

Išvados

1. Buvo ištirta ir įvertinta tikrojo pačiulio (lot. *Pogostemon cablin* Benth.), Teksaso kedro (*Juniperus mexicana* Schiede.) ir apelsininio citrinmedžio (*Citrus sinensis* L.) eterinių aliejų cheminė sudėtis bei nustatyti pagrindiniai komponentai. Tikrojo pačiulio eterinį aliejų sudaro pačiulio alkoholis, α -pačiulenas, α -guajenas. Teksaso kedro eterinio aliejaus pagrindiniai sudėties komponentai yra α -cedrenas, cedrolis, tujopsenas. Apelsininio citrinmedžio eterinis aliejus pasižymėjo vienu pagrindiniu komponentu limonenu, sudarančiu apie 95 % jo sandaros.
2. Atliktas antioksidacinio aktyvumo tyrimas parodė, kad didžiausiu antioksidaciniu aktyvumu pasižymėjo 30 % Teksaso kedro eterinis aliejus – procentinis DPPH slopinimas 90,40 %. Silpniausiu antioksidaciniu aktyvumu pasižymėjo apelsininio citrinmedžio eterinis aliejus – procentinis DPPH slopinimas 25,83 % ir 48,21 %.
3. Geriausiomis antimikrobinėmis savybėmis pasižymėjo tikrojo pačiulio ir apelsininio citrinmedžio eteriniai aliejai. Gramneigiamos bakterijos buvo slopinamos labai silpnai, nes pasižymėjo atsparumu tirtiems eteriniams aliejams. Didžiausiu antibakteriniu poveikiu prieš *S. epidermidis* pasižymėjo tikrojo pačiulio eterinis aliejus, tuo tarpu apelsininio citrinmedžio eteriniam aliejui ši bakterija buvo nejautri. Tirtoms mielių kultūroms stipriausią antimikrobinį poveikį turėjo apelsininio citrinmedžio eterinis aliejus, tačiau jos visos buvo nejautrios Teksaso kedro eterinio aliejaus poveikiui. Tikrojo pačiulio eterinis aliejus pasižymėjo ryškiu fungicidiniu poveikiu visiems tirtiems mikroskopiniams grybams *Fusarium spp.*, *S. Sclerotinium*, *Acremonium sp.*, *A. alternata*. Teksaso kedro eterinis aliejus pasižymėjo stipriu fungicidiniu poveikiu *Fusarium spp.* genties grybams, kitus tirtus grybus slopino vidutiniškai. Apelsininio citrinmedžio eterinis aliejus turėjo didelį slopinantį poveikį *S. sclerotiorum* ir keliems *Fusarium spp.* genties mikroskopiniams grybams, kitus slopino vidutiniškai.
4. Gauti valiklių gamybos ir tyrimo rezultatai rodo, kad valiklyje esančios paviršinės aktyvumo medžiagos sinergetiškai padėjo tikrojo pačiulio ir apelsininio citrinmedžio eteriniams aliejams geriau slopinti tiriamų patogenų augimą. Tiriant pagamintų valiklių poveikį bakterijų ir mielių kultūroms, buvo matomas stipresnis valiklių poveikis patogenų augimui slopinti, negu grynų eterinių aliejų.

Literatūros sąrašas

1. S. I. POLIANCIUC, A. E. GURZAU, B. KISS, M. GEORGIA ȘTEFAN, ir F. LOGHIN, „Antibiotics in the environment: causes and consequences“, *Med Pharm Rep*, t. 93, nr. 3, p. 231–240, 2020. Prieiga per doi: 10.15386/mpr-1742.
2. R. K. VIJAYAJ ir R. PAVAN, „The Effectiveness of Herbal Surface Cleaners on Bacterial and Fungal Contaminants: A Comprehensive Review“, *African Journal of Biomedical Research*, t. 28, nr. 2, p. 1513–1521, kovo 2025. Prieiga per doi: 10.53555/AJBR.v28i2S.7179.
3. E. Y. KLEIN *ir kt.*, „Global trends in antibiotic consumption during 2016-2023 and future projections through 2030“, *Proc Natl Acad Sci U S A*, t. 121, nr. 49, gruodž. 2024. Prieiga per doi: 10.1073/pnas.2411919121.
4. HIGIENOS INSTITUTAS, „Antimikrobinių vaistinių preparatų suvartojimas 2023 m. ataskaita“, Vilnius, 2024. [Interaktyvus]. [žiūrėta 2025-04-25]. Prieiga per internetą: <https://www.hi.lt/antimikrobiniu-vaistiniu-preparatu-vartojimo-lietuvoje-ataskaitos/>
5. WHO, „Control antibiotic misuse or the drugs won’t work, warn WHO experts“, World Health Organization. [Interaktyvus]. [žiūrėta 2025-05-16]. Prieiga per internetą: https://www.who.int/europe/news-room/23-11-2023-control-antibiotic-misuse-or-the-drugs-won-t-work--warn-who-experts?utm_source=com
6. A. I. VISAN ir I. NEGUT, „Coatings Based on Essential Oils for Combating Antibiotic Resistance“, *MDPI*, t. 13, nr. 7, liep. 2024. Prieiga per doi: 10.3390/antibiotics13070625.
7. R. ISEPPI, M. MARIANI, C. CONDO, C. SABIA, ir P. MESSI, „Essential oils: A natural weapon against antibiotic-resistant bacteria responsible for nosocomial infections“, *Antibiotics*, t. 10, nr. 4, 2021. Prieiga per doi: 10.3390/antibiotics10040417.
8. R. ISEPI, C. CONDO, ir P. MESSI, „Synergistic Inhibition of Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) by *Melaleuca alternifolia* Chell (Tea Tree) and *Eucalyptus globulus* Labill. Essential Oils in Association with Oxacillin“, *Antibiotics*, t. 12, nr. 5, geg. 2023. Prieiga per doi: 10.3390/antibiotics12050846.
9. K. V. MUNIVE NUNEZ *ir kt.*, „Antimicrobial Activity of Selected Essential Oils against *Staphylococcus aureus* from Bovine Mastitis“, *Dairy*, t. 5, nr. 1, p. 54–65, kovo 2024. Prieiga per doi: 10.3390/dairy5010005.
10. L. HALL-STOODLEY, J. W. COSTERTON, ir P. STOODLEY, „Bacterial biofilms: From the natural environment to infectious diseases“, 2004 m. vasario. Prieiga per doi: 10.1038/nrmicro821.
11. H. WU, C. MOSER, H. Z. WANG, N. HØIBY, ir Z. J. SONG, „Strategies for combating bacterial biofilm infections“, 2015 m. kovo 23 d., *Sichuan University Press*. Prieiga per doi: 10.1038/ijos.2014.65.
12. R. MANN *ir kt.*, „Evolution of biofilm-forming pathogenic bacteria in the presence of nanoparticles and antibiotic: adaptation phenomena and cross-resistance“, *J Nanobiotechnology*, t. 19, nr. 1, gruodž. 2021. Prieiga per doi: 10.1186/s12951-021-01027-8.
13. Ž. MAŽELIENĖ, R. PLANČIŪNIENĖ, S. LASTAUSKIENĖ, A. ALEKSANDRAVIČIENĖ, ir I. VILIUŠIENĖ, „Klinikinių *Staphylococcus aureus* padermių atsparumas antibiotikams ir bioplėvelių sudarymo aktyvumas“, *Health Sciences*, t. 32, nr. 7, p. 102–107, gruodž. 2022. Prieiga per doi: 10.35988/sm-hs.2022.255.
14. G. SAHAL *ir kt.*, „Antifungal and biofilm inhibitory effect of *Cymbopogon citratus* (lemongrass) essential oil on biofilm forming by *Candida tropicalis* isolates; an in vitro study“, *J Ethnopharmacol*, t. 246, saus. 2020. Prieiga per doi: 10.1016/j.jep.2019.112188.

15. K. A. HAMMER, C. F. CARSON, ir T. V. RILEYA, „Effects of *Melaleuca alternifolia* (tea tree) essential oil and the major monoterpene component terpinen-4-ol on the development of single- and multistep antibiotic resistance and antimicrobial susceptibility“, *Antimicrob Agents Chemother*, t. 56, nr. 2, p. 909–915, vas. 2012. Prieiga per doi: 10.1128/AAC.05741-11.
16. B. G. VILA NOVA ir kt., „The essential oil of *Melaleuca alternifolia* incorporated into hydrogel induces antimicrobial and anti-inflammatory effects on infected wounds by *Staphylococcus aureus*“, *Biomedicine and Pharmacotherapy*, t. 173, bal. 2024. Prieiga per doi: 10.1016/j.biopha.2024.116389.
17. WHO, „Food safety. 2024/10/04“. [Interaktyvus]. [žiūrėta 2025-05-22]. Prieiga per internetą: <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/food-safety>
18. Nacionalinis visuomenės sveikatos centras prie Sveikatos apsaugos ministerijos, „Salmoneliozė“. [Interaktyvus]. [žiūrėta 2025-05-20]. Prieiga per internetą: <https://nvsc.lrv.lt/lt/uzkrečiamuju-ligu-valdymas/uzkrečiamosios-ligos/ligu-aprasai-pagal-abecele/s/salmonelioze/>
19. WHO, „Mycotoxins“. [Interaktyvus]. [žiūrėta 2025-05-12]. Prieiga per internetą: https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/mycotoxins?utm_source=chatgpt.com
20. C. C. TSENG, N. HUANG, C. J. HSIEH, C. C. HUNG, ir Y. L. L. GUO, „Contribution of visible surface mold to airborne fungal concentration as assessed by digital image quantification“, *Pathogens*, t. 10, nr. 8, rugpj. 2021. Prieiga per doi: 10.3390/pathogens10081032.
21. M. KIRCHNER, R. M. GOULTER, B. J. CHAPMAN, J. CLAYTON, ir L. A. JAYKUS, „Cross-contamination on atypical surfaces and venues in food service environments“, 2021 m. liepos 1 d., *International Association for Food Protection*. Prieiga per doi: 10.4315/JFP-20-314.
22. S. JAOUHAR, A. EL OUALI LALAMI, K. OUARRAK, J. BOUZID, M. MAOULOUEA, ir K. BEKHTI, „Bio contamination of surfaces and medical devices in controlled environment areas at a hospital in Morocco“, *E3S Web of Conferences*, EDP Sciences, lapkr. 2021. Prieiga per doi: 10.1051/e3sconf/202131901080.
23. K. H. BASER ir J. M. BONELLO, „Global trade of essential oils“, *Journal of Essential Oil Research*, t. 37(2), p. 208–214, 2025. Prieiga per doi: 10.1080/10412905.2025.2470791.
24. „U.S. Essential Oils Market Size, Share & Trends Analysis Report By Product, By Application (Spa & Relaxation, Food & Beverages, Medical, Cleaning & Home), By Sales Channel (Direct), By Region, And Segment Forecasts, 2025 - 2030“, 2024. [Interaktyvus]. [žiūrėta 2025-03-03]. Prieiga per internetą: <https://www.grandviewresearch.com/industry-analysis/essential-oils-market>
25. P. DAVIS, *Aromaterapija nuo A iki Ž*. Meilės kelias, 2010.
26. J. JASKONIS, *Aromatiniai augalai*. 1989.
27. A. MUTLU-INGOK, D. DEVECIOGLU, D. N. DIKMETAS, F. KARBANCIOGLU-GULER, ir E. CAPANOGLU, „Antibacterial, antifungal, antimycotoxigenic, and antioxidant activities of essential oils: an updated review“, 2020 m. spalio 1 d., *MDPI AG*. Prieiga per doi: 10.3390/molecules25204711.
28. C. PEZANTES-ORELLANA, F. GERMAN BERMUDEZ, C. MATIAS DE LA CRUZ, J. L. MONTALVO, ir A. ORELLANA-MANZANO, „Essential oils: a systematic review on revolutionizing health, nutrition, and omics for optimal well-being“, 2024 m., *Frontiers Media SA*. Prieiga per doi: 10.3389/fmed.2024.1337785.

29. K. DAS, „Patchouli (Pogostemon Cablin Benth) Oils“, *Essential Oils in Food Preservation, Flavor and Safety*, Elsevier, 2015, p. 633–639. doi: 10.1016/B978-0-12-416641-7.00072-9.
30. S. S. ZAHRA, G. A. NAYIK, ir T. KHALIDA, „Patchouli essential oil“, *Essential Oils*, G. A. Nayaik ir Mohammad Javed Ansari, Sud., Elsevier, 2023, 18, p. 429–457. Prieiga per doi: 10.1016/B978-0-323-91740-7.00006-2.
31. T. A. VAN BEEK ir D. JOULAIN, „The essential oil of patchouli, Pogostemon cablin: A review“, 2018 m. sausio 1 d., *John Wiley and Sons Ltd*. Prieiga per doi: 10.1002/ffj.3418.
32. L. L. SANTOS *ir kt.*, „Evaluation of the larvicidal potential of the essential oil pogostemon cablin (Blanco) benth in the control of aedes aegypti“, *Pharmaceuticals*, t. 12, nr. 2, birž. 2019, Prieiga per doi: 10.3390/ph12020053.
33. Y. HE, J. ZHENG, B. YE, Y. DAI, ir K. NIE, „Chemotherapy-induced gastrointestinal toxicity: Pathogenesis and current management“, 2023 m. spalio 1 d., *Elsevier Inc*. Prieiga per doi: 10.1016/j.bcp.2023.115787.
34. G. CHEN *ir kt.*, „Protective effect of the combination of essential oil from patchouli and tangerine peel against gastric ulcer in rats“, *J Ethnopharmacol*, t. 282, saus. 2022. Prieiga per doi: 10.1016/j.jep.2021.114645.
35. W. M. HIKAL *ir kt.*, „Sustainable Pest Management Using Novel Nanoemulsions of Honeysuckle and Patchouli Essential Oils against the West Nile Virus Vector, Culex pipiens, under Laboratory and Field Conditions“, *Plants*, t. 12, nr. 21, lapkr. 2023. Prieiga per doi: 10.3390/plants12213682.
36. P. L. B. JAIN, S. R. PATEL, ir M. A. DESAI, „Patchouli oil: an overview on extraction method, composition and biological activities“, *Journal of Essential Oil Research*, t. 34, nr. 1, p. 1–11, 2022. Prieiga per doi: 10.1080/10412905.2021.1955761.
37. A. DONELIAN, P. F. DE OLIVEIRA, A. E. RODRIGUES, V. G. MATA, ir R. A. F. MACHADO, „Performance of reverse osmosis and nanofiltration membranes in the fractionation and retention of patchouli essential oil“, *Journal of Supercritical Fluids*, t. 107, p. 639–648, saus. 2016. Prieiga per doi: 10.1016/j.supflu.2015.07.026.
38. P. ADHAVAN, G. KAUR, A. PRINCY, ir R. MURUGAN, „Essential oil nanoemulsions of wild patchouli attenuate multi-drug resistant gram-positive, gram-negative and Candida albicans“, *Ind Crops Prod*, t. 100, p. 106–116, birž. 2017. Prieiga per doi: 10.1016/j.indcrop.2017.02.015.
39. M. K. SWAMY ir U. R. SINNIHA, „A comprehensive review on the phytochemical constituents and pharmacological activities of Pogostemon cablin Benth.: An aromatic medicinal plant of industrial importance“, 2015 m., *MDPI AG*. Prieiga per doi: 10.3390/molecules20058521.
40. Y. Y. YI *ir kt.*, „Synthesis and antimicrobial evaluation of pogostone and its analogues“, *Fitoterapia*, t. 84, nr. 1, p. 135–139, saus. 2013. Prieiga per doi: 10.1016/j.fitote.2012.11.005.
41. L. A. LUCHESI, D. PAULUS, C. BUSSO, M. T. FRATA, ir J. B. OLIVEIRA, „Chemical composition, antifungal and antioxidant activity of essential oils from Baccharis dracunculifolia and Pogostemon cablin against Fusarium graminearum“, *Nat Prod Res*, t. 36, nr. 3, p. 849–852, 2022. Prieiga per doi: 10.1080/14786419.2020.1802267.
42. B. DECHAYONT, P. RUAMDEE, S. POONNAIMUANG, K. MOKMUED, ir J. CHUNTHORNG-ORN, „Antioxidant and Antimicrobial Activities of Pogostemon cablin (Blanco) Benth.“, *J Bot*, t. 2017, p. 6, 2017. Prieiga per doi: 10.1155/2017/8310275.

43. P. DONGRE, C. DOIFODE, S. CHOUDHARY, ir N. SHARMA, „Botanical description, chemical composition, traditional uses and pharmacology of Citrus sinensis: An updated review“, 2023 m. rugsėjo 1 d., *Elsevier B.V.* Prieiga per doi: 10.1016/j.prmcm.2023.100272.
44. C. RAVICHANDRAN, P. C. BADGUJAR, P. GUNDEV, ir A. UPADHYAY, „Review of toxicological assessment of d-limonene, a food and cosmetics additive“, 2018 m. spalio 1 d., *Elsevier Ltd.* Prieiga per doi: 10.1016/j.fct.2018.07.052.
45. S. MADHURI, U. H. ASHWINI, N. S. SRILAKSHMI, ir T. R. PRASHITH KEKUDA, „ANTIMICROBIAL ACTIVITY OF CITRUS SINENSIS AND CITRUS AURANTIUM PEEL EXTRACTS“, *Journal of Pharmaceutical & Scientific Innovation*, t. 3, nr. 4, p. 366–368, rugs. 2014. Prieiga per doi: 10.7897/2277-4572.034174.
46. P. ERASTO ir A. M. VILJOEN, „Limonene-A Review: Biosynthetic, Ecological and Pharmacological Relevance“, *Nat Prod Commun*, t. 3, nr. 7, p. 1193–1202, 2008. Prieiga per doi: doi.org/10.1177/1934578X0800300728.
47. M. J. VELAZQUEZ-NUNEZ, R. AVILA-SOSA, E. PALOU, ir A. LOPEZ-MALO, „Antifungal activity of orange (Citrus sinensis var. Valencia) peel essential oil applied by direct addition or vapor contact“, *Food Control*, t. 31, nr. 1, p. 1–4, geg. 2013. Prieiga per doi: 10.1016/j.foodcont.2012.09.029.
48. G. KAUR, K. KAUR, ir P. SALUJA, „Citrus essential oil (grapefruit, orange, lemon)“, *Essential Oils: Extraction, Characterization and Applications*, Elsevier, 2023, 8, p. 179–215. Prieiga per doi: 10.1016/B978-0-323-91740-7.00018-9.
49. J. YANG ir M.-J. PARK, „Antioxidant Effects of Essential Oils from the Peels of Citrus Cultivars“, *Molecules*, t. 30, nr. 4, p. 833, vas. 2025. Prieiga per doi: 10.3390/molecules30040833.
50. P. AGARWAL ir kt., „Citrus Essential Oils in Aromatherapy: Therapeutic Effects and Mechanisms“, 2022 m. gruodžio 1 d., *MDPI*. Prieiga per doi: 10.3390/antiox11122374.
51. J. D. TOSCANO-GARIBAY ir kt., „Antimutagenic and antioxidant activity of the essential oils of Citrus sinensis and Citrus latifolia“, *Sci Rep*, t. 7, nr. 1, gruodž. 2017. Prieiga per doi: 10.1038/s41598-017-11818-5.
52. U.S. Department of Health and Human Services, „Technical Report on the Toxicity Studies of Cedarwood Oil (Virginia) (CASRN 8000-27-9) Administered Dermally to F344/N Rats and B6C3F1/N Mice: Toxicity Report 86“, 2016. [Interaktyvus]. [žiūrėta 2025-05-20]. Prieiga per internetą: <https://www.niehs.nih.gov/research/resources/databases/cebs/index.cfm>.
53. INTERNATIONAL ORGANIZATION FOR STANDARDIZATION, „Essential Oils. Oil of cedarwood, Texas (Juniperus mexicana Schiede) ISO 4725:2004.“, 2004 m. [Interaktyvus]. [žiūrėta 2025-04-27]. Prieiga per internetą: <https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/8a0abd8e-bfc4-47cf-b3bd-1eb223f206bc/iso-4725-2004>
54. J. WANNER ir kt., „Chemical Composition and Antibacterial Activity of Selected Essential Oils and Some of Their Main compounds“, *Nat Prod Commun*, t. 5, nr. 9, p. 1359–1364, 2010.
55. I. TUMEN, F. J. ELLER, C. A. CLAUSEN, ir J. A. TEEL, „Antifungal activity of heartwood extracts from three Juniperus species“, *Bioresources*, t. 8, nr. 1, p. 12–20, vas. 2013. Prieiga per doi: 10.15376/biores.8.1.12-20.
56. V. POLIZZI ir kt., „Autoregulatory Properties of (+)-Thujopsene and Influence of Environmental Conditions on Its Production by Penicillium decumbens“, *Microb Ecol*, t. 62, nr. 4, p. 838–852, lapkr. 2011. Prieiga per doi: 10.1007/s00248-011-9905-9.

57. M. OLECH *ir kt.*, „Lc-esi-ms/ms-mrm profiling of polyphenols and antioxidant activity evaluation of junipers of different origin“, *Applied Sciences (Switzerland)*, t. 10, nr. 24, p. 1–16, gruodž. 2020. Prieiga per doi: 10.3390/app10248921.
58. D. SATERIALE *ir kt.*, „Eco-Friendly Sanitization of Indoor Environments: Effectiveness of Thyme Essential Oil in Controlling Bioaerosol Levels and Disinfecting Surfaces“, *BioTech*, t. 13, nr. 2, birž. 2024. Prieiga per doi: 10.3390/biotech13020012.
59. B. CHATTERJEE *ir R. R. VITTAL*, „Surface Disinfection and Sanitizing Action of the Alcohol-Free Essential Oil-based Green Formulation“, *Curr Microbiol*, t. 80, nr. 5, geg. 2023. Prieiga per doi: 10.1007/s00284-023-03265-5.
60. C. VALERIANO, T. L. C. DE OLIVEIRA, S. M. DE CARVALHO, M. das G. CARDOSO, E. ALVES, *ir R. H. PICCOLI*, „The sanitizing action of essential oil-based solutions against *Salmonella enterica* serotype Enteritidis S64 biofilm formation on AISI 304 stainless steel“, *Food Control*, t. 25, nr. 2, p. 673–677, birž. 2012. Prieiga per doi: 10.1016/j.foodcont.2011.12.015.
61. C. L. YUAN, Z. Z. XU, M. X. FAN, H. Y. LIU, Y. H. XIE, *ir T. ZHU*, „Study on characteristics and harm of surfactants“. *Journal of Chemical and Pharmaceutical Research*, t. 6, nr. 7, p. 2233–2237, 2014. [Interaktyvus]. [žiūrėta 2025-05-20]. Prieiga per internetą: www.jocpr.com
62. T. H. TRAN *ir kt.*, „Formulation of a floor cleaning product using lemongrass (*Cymbopogon citratus*) essential oil and evaluation of foamability and foam durability“, *IOP Conf Ser Mater Sci Eng*, t. 991, nr. 1, gruodž. 2020. Prieiga per doi: 10.1088/1757-899X/991/1/012132.
63. UAB „Lerochemas“, „Paviršiaus aktyviosios medžiagos“. [Interaktyvus]. [žiūrėta 2025-05-12]. Prieiga per internetą: <https://lerochem.eu/lt/64-pam>
64. NEELAKANTH, SIDDE GOWDA D. K., CHETHANA B. S., *ir PARASAPPA H. H.*, „In vitro and In vivo Evaluation of Fungicides Against *Pyricularia oryzae* Causing Blast of Rice“, *Int J Pure Appl Biosci*, t. 5, nr. 3, p. 259–263, liep. 2017. Prieiga per doi: 10.18782/2320-7051.3080.
65. P. A. AZAR, M. NEKOIEI, K. LARIJANI, *ir S. BAHRAMINASAB*, „Chemical composition of the essential oils of *Citrus sinensis* cv. Valencia and a quantitative structure-retention relationship study for the prediction of retention indices by multiple linear regression“, *Journal of the Serbian Chemical Society*, t. 76, nr. 12, p. 1627–1637, gruodž. 2011. Prieiga per doi: 10.2298/JSC101218141A.
66. F. A. SOUHOKA, A. Z. AL AZIZ, *ir N. NAZUDIN*, „Patchouli Oil Isolation and Identification of Chemical Components Using GC-MS“, *Indonesian Journal of Chemical Research*, t. 8, nr. 2, p. 108–113, rugs. 2020. Prieiga per doi: 10.30598/ijcr.2020.8-fas.
67. K. MASYKUR, V. HANDANDAYANI, *ir A. ROSKIANA AHMAD*, „Profiling and Phenolic Content of Patchoulii oil (*Pogostemon cablin* Benth.)“, *International Journal of Medical Science and Dental Research*, t. 7, nr. 2, p. 9–17, 2024. [Interaktyvus]. [žiūrėta 2025-05-12]. Prieiga per internetą: www.ijmsdr.org
68. K. KUMAR, S. SRIVASTAV, *ir V. S. SHARANAGAT*, „Ultrasound assisted extraction (UAE) of bioactive compounds from fruit and vegetable processing by-products: A review“, 2021 m. sausio 1 d., *Elsevier B.V.* Prieiga per doi: 10.1016/j.ultsonch.2020.105325.
69. R. AMORATI, M. C. FOTI, *ir L. VALGIMIGLI*, „Antioxidant activity of essential oils“, *J Agric Food Chem*, t. 61, nr. 46, p. 10835–10847, lapkr. 2013. Prieiga per doi: 10.1021/jf403496k.

70. M. S. BREWER, „Natural Antioxidants: Sources, Compounds, Mechanisms of Action, and Potential Applications“, *Compr Rev Food Sci Food Saf*, t. 10, nr. 4, p. 221–247, liep. 2011, Prieiga per doi: 10.1111/j.1541-4337.2011.00156.x.
71. A. B. CUTILLAS, A. CARRASCO, R. MARTINEZ-GUTIERREZ, V. TOMAS, ir J. TUDELA, „Thymus mastichina L. essential oils from Murcia (Spain): Composition and antioxidant, antienzymatic and antimicrobial bioactivities“, *PLoS One*, t. 13, nr. 1, saus. 2018, Prieiga per doi: 10.1371/journal.pone.0190790.
72. X. HU, M. HAN, J. LIU, F. LI, ir Y. CUI, „Ameliorative Effect of Natural Sesquiterpene Alcohol Cedrol Against Cerebral Ischemia Infarction—In Vitro and In Vivo Studies“, *Appl Biochem Biotechnol*, lapkr. 2024. Prieiga per doi: 10.1007/s12010-024-04965-9.
73. S. NURDIN, T. HASAN, ir M. IQBAL, „Antioxidant Activity of Patchouli Oil (Pogostemon cablin Benth) From North Kolaka Using the DPPH Method“, 2022.
74. P. DAS, S. DUTTA, J. BEGUM, ir Md. N. ANWAR, „Antibacterial and Antifungal Activity Analysis of Essential Oil of Pogostemon cablin (Blanco) Benth“, *Banglad J Microbiol*, t. 30, nr. 1–2, p. 7–10, gruodž. 2013. Prieiga per doi: 10.3329/bjm.v30i1-2.28446.
75. L. GALOVIČOVA ir kt., „Biological Activity of Pogostemon cablin Essential Oil and Its Potential Use for Food Preservation“, *Agronomy*, t. 12, nr. 2, vas. 2022. Prieiga per doi: 10.3390/agronomy12020387.
76. A. FRANCO-VEGA, F. REYES-JURADO, G. A. CARDOSO-UGARTE, M. E. SOSA-MORALES, E. PALOU, ir A. LOPEZ-MALO, „Sweet Orange (Citrus sinensis) Oils“, *Essential Oils in Food Preservation, Flavor and Safety*, Elsevier, 2015, p. 783–790. Prieiga per doi: 10.1016/B978-0-12-416641-7.00089-4.
77. T. T. K. NGAN, O. B. NGUEN, N. V. MUOI, T. T. TRUC, ir V. T. N. MY, „Chemical composition and antibacterial activity of orange (citrus sinensis) essential oils obtained by hydrodistillation and solvent free microwave extraction“, *IOP Conference Series: Materials Science and Engineering*, IOP Publishing Ltd, gruodž. 2020. Prieiga per doi: 10.1088/1757-899X/991/1/012023.
78. A. L. B. DIAS ir kt., „Chemical composition and in vitro inhibitory effects of essential oils from fruit peel of three citrus species and limonene on mycelial growth of sclerotinia sclerotiorum“, *Brazilian Journal of Biology*, t. 80, nr. 2, p. 460–464, bal. 2020. Prieiga per doi: 10.1590/1519-6984.216848.
79. D. I. IVANOVA ir kt., „Antimicrobial activity and chemical analyses of seven Juniperus L. species“, *Current Issues in Pharmacy and Medical Sciences*, t. 36, nr. 4, p. 236–241, gruodž. 2023. Prieiga per doi: 10.2478/cipms-2023-0041.

Publikacijų sąrašas

Mokslinių tyrimų rezultatų skelbimas konferencijose

Pranešimai konferencijų medžiagoje

1. ANISIMENKAITĖ, L., ŽVIRDAUSKIENĖ, R., BARANAUSKIENĖ, R., "Investigation of volatile plant extract fungicidal activity" Konferencijos "Good Solutions for Gaps in Pharmacy: in Line With the European Priorities" Publikacija. 2024, p. 97-98. ISBN 9789669419788.

Žodiniai pranešimai konferencijose

1. Lietuvos mokslų tarybos organizuota vasaros praktika „Mokslo vasara“ skaitytas žodinis pranešimas. 2024. ANISIMENKAITĖ, L., ŽVIRDAUSKIENĖ, R., „Pačiulio, kedrų ir apelsinų eterinių aliejų fungicidinio poveikio patogeniniams grybams tyrimai“