



Kauno technologijos universitetas

Cheminės technologijos fakultetas

**Raudonojo baziliko (lot. *Ocimum basilicum* L.) kaliaus kultūrų
ekstraktų fitocheminio aktyvumo įvertinimas ir jų pritaikymo
galimybės plaukų apsaugai nuo UV spinduliuotės**

Baigiamasis magistro projektas

Ieva Čalkaitė

Projekto autorė

Doc. dr. Ilona Jonuškienė

Vadovė

Dr. Ernesta Malinauskytė

Konsultantė

Kaunas, 2025



Kauno technologijos universitetas

Cheminės technologijos fakultetas

**Raudonojo baziliko (lot. *Ocimum basilicum* L.) kaliaus kultūrų
ekstraktų fitocheminio aktyvumo įvertinimas ir jų pritaikymo
galimybės plaukų apsaugai nuo UV spinduliuotės**

Baigiamasis magistro projektas

Pramoninė biotechnologija (6211FX010)

Ieva Čalkaitė

Projekto autorė

Doc. dr. Ilona Jonuškienė

Vadovė

Doc. dr. V. Kederienė

Recenzentė

Kaunas, 2025



Kauno technologijos universitetas

Cheminės technologijos fakultetas

Ieva Čalkaitė

Raudonojo baziliko (lot. *Ocimum basilicum* L.) kaliaus kultūrų ekstraktų fitocheminio aktyvumo įvertinimas ir jų pritaikymo galimybės plaukų apsaugai nuo UV spinduliuotės

Akademinio sąžiningumo deklaracija

Patvirtinu, kad:

1. baigiamąjį projektą parengiau savarankiškai ir sąžiningai, nepažeisdama(s) kitų asmenų autoriaus ar kitų teisių, laikydamasi(s) Lietuvos Respublikos autorių teisių ir gretutinių teisių įstatymo nuostatų, Kauno technologijos universiteto (toliau – Universitetas) intelektinės nuosavybės valdymo ir perdavimo nuostatų bei Universiteto akademinės etikos kodekse 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 mokėjęs (-usi);
4. suprantu, kad išaiškėjus nesąžiningumo ar kitų asmenų teisių pažeidimo faktui, man bus taikomos akademinės nuobaudos pagal Universitete galiojančią tvarką ir būsiu pašalinta(s) iš Universiteto, o baigiamasis projektas gali būti pateiktas Akademinės etikos ir procedūrų kontrolieriaus tarnybai nagrinėjant galimą akademinės etikos pažeidimą.

Ieva Čalkaitė

Čalkaitė, Ieva. Raudonojo baziliko (lot. *Ocimum basilicum* L.) kaliaus kultūrų ekstraktų fitocheminio aktyvumo įvertinimas ir jų pritaikymo galimybės plaukų apsaugai nuo UV spinduliuotės. Magistro baigiamasis projektas / vadovė doc. dr. Ilona Jonuškienė; Kauno technologijos universitetas, Cheminės technologijos fakultetas.

Studijų kryptis ir sritis (studijų krypties grupė): Biotechnologijos, Technologijų mokslai.

Reikšminiai žodžiai: raudonasis bazilikas (lot. *Ocimum basilicum* L.), kaliaus kultūra, UV filtrai, plaukų baltymai, plaukų lipidai.

Kaunas, 2025. 55 p.

Santrauka

Projekto metu, taikant skirtingas augimo reguliatorių koncentracijas, buvo suformuluotos optimalios raudonojo baziliko (*Ocimum basilicum* var. *purpurascens*) kaliaus kultūrų auginimo sąlygos, skatinančios bioaktyviųjų junginių kaupimąsi visose augalo morfologinėse dalyse – šaknyse, stiebuose ir lapuose. Tyrimo rezultatai parodė, kad didžiausia fitocheminių junginių koncentracija nustatyta šaknų ir stiebų kaliaus kultūrose, augintose MS terpėje su 0,1 mg/l 3-indolilacto rūgštimi (IAR) ir 5 mg/l tidiazuronu (TDZ), tuo tarpu lapų kaliaus kultūroms optimali biosintezės terpė, kurioje buvo 0,1 mg/l IAR, 5 mg/l TDZ ir 0,5 mg/l aminorūgšties *L*-triptofano.

Pagal šiuos duomenis, buvo sukurti trys tarpiniai, arba baziniai, ir trys galutiniai kosmetikos produktų prototipai, kurių sudėtyje panaudotas 0,056 g/ml koncentracijos vandeninis baziliko kaliaus kultūrų ekstraktas. Įvertinus formulių stabilumą, klampą ir pH, bei palyginus šiuos parametrus su rinkoje esančiais analogais, nustatyta, kad jie atitinka kokybinius reikalavimus ir yra tinkami tolimesniems tyrimams.

Sukurtos kosmetikos formulės buvo pritaikytos natūraliai baltų plaukų apsaugai nuo plataus spektro dirbtinės šviesos poveikio – regimosios, infraraudonosios ir ultravioletinės – trukusio 20 valandų, kas atitinka maždaug 90 valandų natūralios saulės šviesos ekspoziciją Nevados valstijoje (JAV). Eksperimentiniai duomenys atskleidė, kad, lyginant su neigiama kontrole, produktų prototipai efektyviau apsaugojo plaukų baltymų struktūrą nei lipidinę sandarą. Raudonojo baziliko ekstrakto derinimas su plataus spektro UV filtru pasižymėjo geresne plaukų baltymų struktūros apsauga. Buvo nustatyta, kad veiksmingai lipidų apsaugai reikalingas tolygus plauko paviršiaus padengimas, stipresnis UV filtro gebėjimas sugerti UVB spindulius bei natūralių antioksidantų gebėjimas įsiskverbti į lipidais turtingą, plaukų ląstelių membranos kompleksą.

Čalkaitė, Ieva. Evaluation of Phytochemical Activity of Purple Basil (*Ocimum basilicum* L.) Callus Culture Extracts and Their Potential Application for Hair Protection Against UV Rays. Master's Final Degree Project / supervisor Assoc. Prof. dr. Ilona Jonuškienė; Faculty of Chemical Technology, Kaunas University of Technology.

Study field and area (study field group): Biotechnology, Technological Sciences.

Keywords: purple basil (*Ocimum basilicum* L.), callus culture, UV filters, hair proteins, hair lipids.

Kaunas, 2025. 55.

Summary

During the project, using different concentrations of growth regulators, optimal conditions for the cultivation of purple basil (*Ocimum basilicum* var. *purpurascens*) callus cultures were formulated, promoting the accumulation of bioactive compounds in all morphological parts of the plant - roots, stems and leaves. The results showed that the highest concentration of phytochemical compounds was found in root and stem callus cultures grown in a medium with 0.1 mg/l indole-3-acetic acid (IAA) and 5 mg/l thidiazuron (TDZ), while for leaf callus culture, the optimal biosynthesis medium included 0.1 mg/l IAR, 5 mg/l TDZ and 0.5 mg/l amino acid *L*-tryptophan.

Based on the collected data, three initial and three final prototypes of cosmetic products were developed, which used an aqueous extract of purple basil callus cultures at a concentration of 0.056 g/ml. After evaluating the stability, viscosity and pH of the cosmetic compositions, and comparing these parameters with analogues on the market, it was determined that they meet the quality requirements and are suitable for further research.

The developed cosmetic formulas were applied to protect natural white hair from exposure to a wide spectrum of artificial light - visible, infrared and ultraviolet - for 20 hours. This duration corresponds to approximately 90 hours of natural sunlight exposure in the state of Nevada (USA). Experimental data revealed that, compared to the negative control, the product prototypes protected the protein structure of the hair more effectively than the lipid structure. The presence of bioactive compounds, extracted from purple basil callus culture and broad-spectrum UV absorption were associated with improved protein protection. Even surface coverage, a stronger ability of the UV filter to absorb UVB rays, and the natural antioxidant's capacity to access lipid regions in hair were identified as essential formulation features for effective lipid protection.

Turinys

Santrumpų ir terminų sąrašas	8
Įvadas.....	9
1. Literatūros apžvalga	10
1.1. Plaukai	10
1.1.1. Plaukų baltymai	10
1.1.2. Plaukų lipidai.....	12
1.2. UV filtrai	12
1.2.1. Neorganiniai (mineraliniai, fiziniai) filtrai	14
1.2.2. Organiniai (cheminiai) filtrai.....	15
1.2.3. Augalinės kilmės antriniai metabolitai	16
1.3. Raudonasis bazilikas	17
1.4. Augalinių ląstelių kultivavimas <i>in vitro</i>	18
1.4.1. Kaliaus kultūrų naudojimas kosmetikoje	19
1.5. Literatūros apžvalgos apibendrinimas	19
2. Medžiagos ir tyrimų metodai	21
2.1. Naudotos medžiagos.....	21
2.2. Raudonojo baziliko kaliaus kultūrų ekstraktų gavimas.....	21
2.2.1. Augalų ląstelių kultivavimas	21
2.2.2. Ekstrakto paruošimo procedūra	22
2.2.3. Baziliko kaliaus kultūrų ekstraktų antioksidacinis aktyvumas.....	23
2.2.3.1. Antiradikalinio aktyvumo nustatymas ABTS metodu	23
2.2.3.2. Antiradikalinio aktyvumo nustatymas DPPH metodu	23
2.2.3.3. Redukcinių savybių nustatymas	23
2.2.4. Biologiškai aktyviųjų junginių įvertinimas ekstraktuose	24
2.2.4.1. Bendrosios fenolinių junginių koncentracijos nustatymas	24
2.2.4.2. Bendrosios fenolinių rūgščių koncentracijos nustatymas.....	24
2.2.4.3. Flavonoidų koncentracijos nustatymas.....	25
2.2.4.4. Bendrosios antocianinų koncentracijos nustatymas	25
2.3. Kosmetikos produktų gavimas	26
2.3.1. Kosmetikos produktų pH matavimas	26
2.3.2. Stabilumo tyrimas.....	27
2.3.3. Klampos matavimas	27
2.4. Kosmetikos produktų efektyvumo nustatymas	27
2.4.1. Plaukų mėginių veikimas UV spinduliuote	27
2.4.2. Plaukų lipidų klasių ir jų koncentracijų nustatymas (HPTLC)	28
2.4.3. Plaukų baltymų struktūros pokyčių nustatymas	29
2.4.3.1. Diferencinė skenuojančioji kalorimetrija (DSC).....	29
2.4.3.2. Natrio dodecilsulfato – poliakrilamido gelio elektroforezė (SDS-PAGE).....	29
2.4.4. Plaukų paviršinio sluoksnio pasikeitimų identifikavimas	30
2.5. Statistinė rezultatų analizė	30
3. Tyrimų rezultatai ir jų aptarimas.....	31
3.1. Raudonojo baziliko kaliaus kultūrų formavimasis	31
3.2. Raudonojo baziliko kaliaus kultūrų ekstraktų biologinis aktyvumas.....	32
3.3. Tarpinių produktų gavimas ir savybių tyrimas.....	35

3.4. Galutinių produktų gavimas ir savybių tyrimas	36
3.5. Plaukų apsauga nuo UV spinduliuotės	38
4. Rekomendacijų dalis	47
4.1. Rekomenduojama flavonoidų gavimo aparatūrinė schema.....	47
Išvados	49
Literatūros sąrašas	50
Publikacijų sąrašas	55

Santrumpų ir terminų sąrašas

ABTS – 2,2'-azino-bis-(3-etilbenzotiazolino-6-sulfono) rūgštis;

AUC – plotas po kreive;

DPPH – 2,2-difenil-1-pikrilhidrazilas;

DSC – diferencinė skenuojančioji kalorimetrija;

DTT – ditioneitolis;

EDTA – etilendiamintetraacto rūgštis;

HPTLC – aukštos skiriamosios gebos plonasluoksnė chromatografija;

IAR – 3-indolilacto rūgštis;

IR – infraraudonoji spinduliuotė;

KAP – su keratinu susiję baltymai;

KIF – keratino tarpiniai filamentai;

MS – Murashige ir Skoog terpė;

PABA – p-aminobenzenkarboksirūgštis;

PVP – polivinilpirolidonas;

SDS – natrio laurilsulfatas;

SDS-PAGE – natrio dodecilsulfato – poliakrilamido gelio elektroforezė;

SEM – skenuojančioji elektroninė mikroskopija;

TDZ – 1-fenil-3-(1,2,3-tiadiazol-5-il)urėja, dar vadinamas tidiazuronu;

TEA – trietanolaminas;

TRP – *L*-triptofanas;

UV – ultravioletinė spinduliuotė;

UVA – ultravioletinė spinduliuotė (321–400 nm);

UVB – ultravioletinė spinduliuotė (290–320 nm);

UVC – ultravioletinė spinduliuotė (100–290 nm).

Ivadas

Saulės spinduliuotė yra vienas iš neišvengiamų aplinkos veiksnių, galinčių turėti neigiamą poveikį žmogaus organizmui. Nors mokslinėje literatūroje plačiai aprašytas ultravioletinės spinduliuotės (UV) žalingas poveikis odai, pastaruoju metu vis daugiau dėmesio skiriama UV spindulių daromai žalai plaukų struktūrai. Siekdama apsaugoti vartotojus nuo šio poveikio, kosmetikos pramonė pradeda naudoti organinius ir neorganinius UV filtrus, nors šių priemonių pasirinkimas rinkoje vis dar išlieka ribotas. Šių cheminių medžiagų taikymas kelia pagrįstų klausimų dėl jų saugumo ir patogumo juos naudoti. Atsižvelgiant į tai, vis dažniau ieškoma saugesnių alternatyvų. Viena iš perspektyviausių krypčių – augalinės kilmės medžiagų tyrimai, ypač augalų, turinčių stiprų antioksidacinį potencialą. Vienas iš tokių augalų – raudonasis bazilikas (lot. *Ocimum basilicum* var. *purpurascens*), kurio sudėtyje esantys biologiškai aktyvūs junginiai, kaip ir sintetiniai organiniai filtrai, gali absorbuoti UV spindulius, tačiau jų biologinis suderinamumas ir mažesnis toksiškumas žmogui bei aplinkai daro juos itin patrauklius šiuolaikinės kosmetikos kontekste. Be to, panaudojus *in vitro* augalinių ląstelių kultivavimo technologijas, galima kontroliuojamomis sąlygomis išgauti didesnę biologiškai aktyvių junginių koncentraciją, taip pagerinti jų efektyvumą.

Šio projekto tikslas – sukurti kosmetikos produktą plaukams, praturtintą ekstraktu gautu iš raudonojo baziliko (lot. *Ocimum basilicum* var. *purpurascens*) kaliaus kultūrų ir įvertinti jo savybes.

Projekto uždaviniai:

1. užauginti raudonojo baziliko (*Ocimum basilicum* var. *purpurascens*) visų augalo dalių (šaknų, stiebų ir lapų) kaliaus kultūras;
2. paruošti vandeninius ekstraktus ir įvertinti jų fitochemines savybes;
3. į kosmetikos produkto prototipo kompoziciją įterpti perspektyviausią ekstraktą ir nustatyti, ar jis geba apsaugoti plaukų baltymus ir lipidus nuo UV spindulių teikiamos žalos.

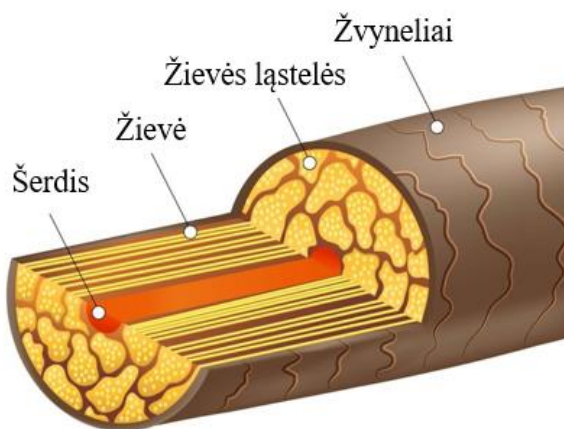
1. Literatūros apžvalga

Šioje dalyje apžvelgiama saulės spinduliuotės žala bei organiniai, neorganiniai ir augalinės kilmės UV filtrai, įvardijami jų privalumai ir trūkumai. Aprašomi pagrindiniai plaukų struktūros ypatumai bei jų pokyčiai po UV spinduliuotės poveikio.

1.1. Plaukai

Žmogaus plaukai atlieka įvairias funkcijas: apsauginę, veikia kaip barjeras nuo išorinių aplinkos veiksnių, reguliacinę, padeda reguliuoti kūno temperatūrą, socialinę ir psichologinę, daro įtaką pasitikėjimui savimi ir asmeniniam įvaizdžiui. O jų būklei didelę įtaką turi aplinkos veiksniai, taikomos kosmetinės procedūros ir kasdieniai plaukų priežiūros įpročiai [1].

Plauko stiebą sudaro trys pagrindiniai komponentai (žr. 1.1 pav.). Žvyneliai, t.y. išorinis plauko sluoksnis sudarytas iš persidengiančių, žvynus primenančių ląstelių, kurios yra kaip apsauginis barjeras ir atlieka svarbų vaidmenį apibūdinant plauko paviršiaus savybes, tokias kaip tekstūra ir trintis. Po jais yra žievė, kuri sudaro didžiąją dalį plauko masės ir kurioje yra pailgų ląstelių, užpildytų keratino tarpiniais filamentais (KIF) ir su keratinu susijusiais baltymais (KAP). Kartu šie elementai sudaro sudėtinę struktūrą, kuri suteikia tempiamąjį stiprumą ir elastingumą. Pačiame plauko stiebo centre yra šerdis. Plaukų šerdies buvimas plaukuose yra kintamas ir priklauso nuo tokių veiksnių kaip pluošto storis, genetiniai skirtumai ir plaukų augimo stadija. Atsižvelgiant į minimalų jų indėlį plauko stiebo mechaniniam stiprumui, šerdys nėra būtinos plauko struktūrai, jų nebuvimas paprastai nekenkia plauko funkciniam vientisumui [2].

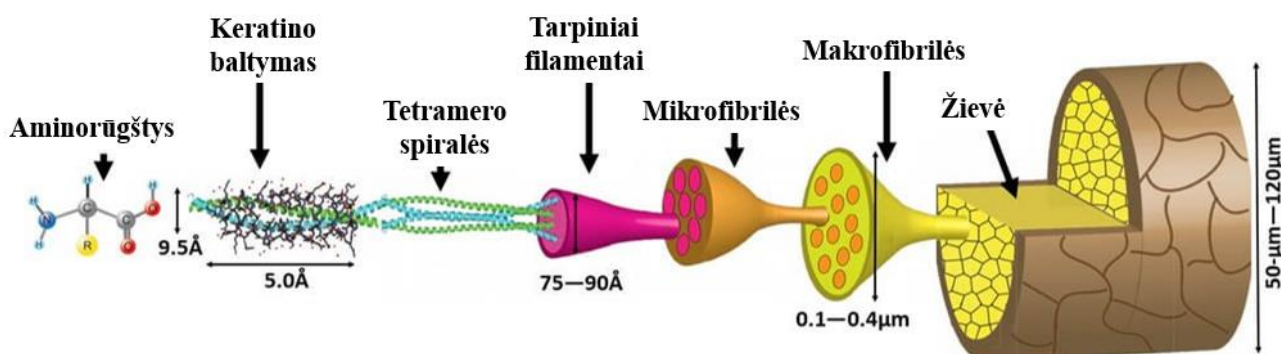


1.1 pav. Plaukų stiebo struktūra © 2024 HairKnowHow.com.

1.1.1. Plaukų baltymai

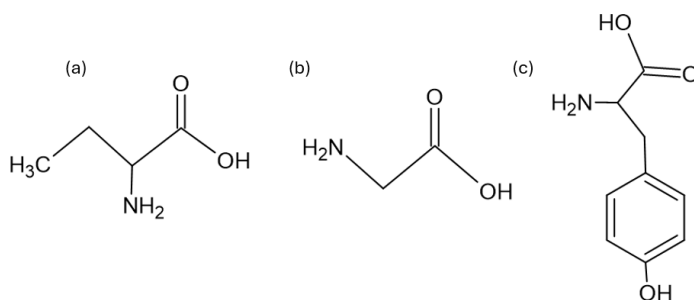
Žmogaus plaukai yra sudėtingas biologinis pluoštas, daugiausiai (65 – 95 %) sudarytas iš baltymo keratino, išsidėsčiusio sluoksniuota struktūra. Taip pat į plauko sudėtį įeina lipidai, vanduo ir kiti smulkūs junginiai, kaip pigmentai. Keratinas daugiausia yra sudarytas iš tirozino, glicino ir cisteino aminorūgščių. Plaukuose esantys keratino baltymai pagal jų izoelektrinius taškus klasifikuojami kaip tarpiniai filamentiniai (IF) baltymai – I tipo (rūgštiniai) ir II tipo (baziniai arba neutralūs). Baltyminė plaukų struktūros dalis turi sudėtingą hierarchinės struktūros išsidėstymą (žr. 1.2 pav.). Mažiausiame lygmenyje yra tarpiniai filamentai, vadinami mikrofibrilėmis arba mikrofilamentais, kurių skersmuo

yra apie 75 Å. Šie filamentai sudaryti iš susisukusių I ir II tipo keratino baltymų porų, sudarančių dimerus, kurie agreguojasi į tetramerus, o vėliau – į aukštesnės eilės filamentus.



1.2 pav. Plaukų žievės struktūra [3]

Šie tarpiniai filamentai yra susijungę į mažiau organizuotą matricą ir sudaro makrofibriles – verpstės formos struktūras, kurių skersmuo svyruoja nuo 0,1 iki 0,4 μm. Makrofibrilės spirališkai juda žievės ląstelėse ir sudaro pagrindinius plauko žievės skaidulinius subvienetus. Filamentus supa matrica, kurioje yra didelė disulfidinių jungčių koncentracija ir kurią daugiausia sudaro su keratinu susiję baltymai (KAP), todėl jie veikia kaip skersiniai ryšiai. KAP paprastai skirstomi į tris kategorijas pagal jų aminorūgščių sudėtį: didelio sieros kiekio, itin didelio sieros kiekio, ir didelio glicino – tirozino kiekio (žr. 1.3 pav.). Didelio sieros kiekio KAP sudėtyje yra apie 20–30 % cistino (dimeras, sudarytas iš dviejų cisteino molekulių), o itin didelio sieros kiekio – daugiau nei 30 %. Didelis cistino kiekis leidžia susidaryti tankioms disulfidinėms jungtims, kurios prisideda prie plaukų skaidulų stiprumo ir standumo. Ši matrica primena lengvai susiūtą gelį ir yra kaip surišančioji medžiaga, kuri jungia tarpinius filamentus į tvirtus struktūrinius vienetus [4].



1.3 pav. Pagrindinės plaukų baltymus sudarančių aminorūgščių cheminės struktūros: a – cisteino, b – glicino, c – tirozino

Manoma, kad didelės glicino/tirozino koncentracijos baltymai, dažnai yra 6 000–9 000 Da dydžio, suteikia elastingumo [5]. Plauko žievės ir žvynelių baltymai yra nevienodai paveikiami UV spinduliuotės, nes spindulių prieinamumas ir intensyvumas skiriasi. Žvynelius pasiekia tiek UVA, tiek UVB spinduliai. Tryptofanas ir tirozinas yra tarp labiausiai jautrių aminorūgščių UVB spinduliams [6]. Plaukuose esantis cistinas silpnai sugeria UVB spindulius, tačiau dėl didelio jo kiekio jis gali reikšmingai prisidėti saugant plaukus nuo ilgalaikio UV poveikio [7]. Dėl baltymų ir lipidų pokyčių žvyneliuose tarp jų sluoksnių atsiranda ertmių, kurios sukelia žvynelių atsiskyrimą ar pakilimą [8]. Reaktyviosios deguonies formos, susidarančios iš oksiduotų lipidų, gali sukelti peptidinės grandinės oksidaciją, dėl kurios peptidinės jungtys nutrūksta. Tokie pokyčiai gali prisidėti

prie tolesnių skersinių ryšių formavimo reakcijų (angl. *crosslinking reaction*) arba būti pašalinami plaunant plaukus [9].

1.1.2. Plaukų lipidai

Plaukų lipidai klasifikuojami pagal jų prisijungimą, kilmę ir vietą į laisvus arba surištus, endogeninius arba egzogeninius ir paviršinius arba vidinius. Lipidai sudaro maždaug 1–9 % sauso plauko svorio ir turi didelę įtaką paviršiaus krūviui, kondicionavimo efektyvumui ir apsaugai nuo aplinkos veiksnių.

Surišti lipidai, tokie kaip 18-metileikozano rūgštis yra kovalentiškai prijungti prie baltymų ir sudaro monosluoksnį kiekvieno žvynelio ląstelės paviršiuje. Šis monosluoksnis yra būtinas norint išlaikyti plaukų hidrofobinę prigimtį ir pagerinti jų paklusnumą. Priešingai, laisvieji lipidai, įskaitant riebalų rūgštis, vaško esterius, trigliceridus ir angliavandenilius, yra susijungę su plaukais silpnesnėmis sąveikomis ir gali būti pašalinti naudojant paviršiaus aktyvias medžiagas (randamos šampūne) ir tirpiklius [4].

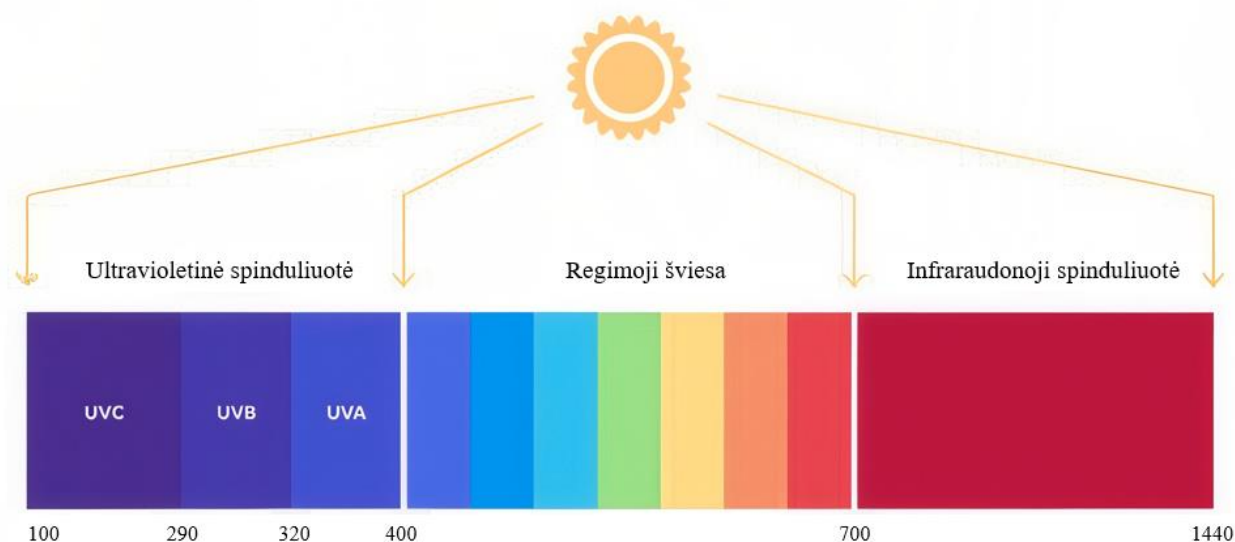
Egzogeniniai lipidai, kuriuos pagamina riebalų liaukos, sudaro: laisvosios riebalų rūgštys, trigliceridai, cholesterolis, vaško esteriai ir skvalenas. Endogeninius lipidus, kylančius iš plaukų matricos ląstelių sudaro laisvosios riebalų rūgštys, cholesterolis, keramidai, gliukozilkeramidai, cholesterolio sulfatas ir 18-metileikozano rūgštis [10].

Vidiniai, ląstelės membranos komplekse esantys lipidai, atlieka struktūrinį vaidmenį, veikdami kaip klajai tarp baltymų struktūrų plaukų žvyneliuose ir žievės ląstelėse. O išoriniai, gaunami iš sebumo ir prakaito, prisideda prie plaukų atsparumo vandeniui, suteikia blizgesį ir lubrikaciją [11].

Plaukų lipidai yra vieni iš pirmųjų komponentų, kuriuos paveikia UV spinduliuotė. Kovalentinėmis jungtimis su plauko paviršiumi susijungusi 18-metileikozano rūgštis, kartu su nesočiosiomis riebalų rūgštimis oksiduojasi tiek UVB, tiek UVA spinduliuotėje, nepriklausomai nuo plauko pigmentacijos. Svarbu paminėti, kad UVB spinduliuotė skaido laisvasias riebalų rūgštis dvigubai greičiau nei UVA [12]. Šis lipidų skaidymas silpnina sukibimą tarp žvynelių sluoksnio ir tarp žvynelių – žievės, net ir po santykinai trumpo UV spindulių poveikio. Ilgai veikiant, skaidomi lipidai gali toliau reaguoti su plaukų baltymais (angl. *crosslinking reaction*) ir toliau keisti plauko struktūrą [13]. Naujosios Zelandijos mokslininkai teigia, jog ne tik UVA ir UVB spinduliai skaido ląstelių membranų kompleksų lipidus, bet ir regimoji šviesa, kadangi 18-metileikozano rūgštis, cholesterolis, cholesterolio sulfatas ir oleino bei palmitolio rūgštys yra jautrūs fotooksidacinėms reakcijoms [14].

1.2. UV filtrai

Ozono sluoksnis atlieka svarbų vaidmenį filtruojant ultravioletinę spinduliuotę visiškai blokuodamas trumpiausias ir daugiausia energijos turinčias UVC (100–290 nm) bangas, o UVB (290–320 nm) spinduliuotės praleidžia tik 0,1%. Saulės energiją, kuri prasiskverbia pro atmosferą ir pasiekia Žemės paviršių sudaro: 5% UVA (321–400 nm) spinduliuotės, 39–45 % matomos šviesos (400–700 nm) ir apie 40 % infraraudonųjų spindulių (700–1440 nm) (1.4 pav.) [15].



1.4 pav. Saulės elektromagnetinis spektras © 2025 iStockphoto LP.

UVB ir UVA bangos yra atlieka svarbius vaidmenis biologinėse sistemose, skatina vitamino D sintezę žmogaus odoje ir padeda augalams vykdyti vieną iš pagrindinių fiziologinių funkcijų – fotosintezę. Nors odoje esantis melaninas pasižymi apsauga nuo ultravioletinių spindulių daromos žalos, tačiau nepakankamai ir ilgalaikis šių spindulių poveikis kelia didelę riziką sveikatai. Trumpesnės UVB bangos pasižymi odos nudegimais bei padidina odos vėžio riziką, o UVA įsikverbia giliau ir lemia fotosenėjimą bei padidina lėtesnės, nei UVB spindulių sukeltos, kancerogenezės riziką. Dėl šių priežasčių yra būtina naudoti plataus spektro apsaugos nuo saulės priemonės, kuriose būtų UV filtrų [16]. Europos parlamento ir tarybos reglamente (EB) Nr. 1223/2009 UV filtrai yra apibūdinami, kaip medžiagos, kuriomis išimtinai arba daugiausia siekiama apsaugoti odą nuo tam tikros UV spinduliuotės ją absorbuojant, atspindint arba išskleidant [17]. Šiuo metu Europos chemikalų agentūroje *ECHA* yra 47 UV filtrai, leidžiami naudoti Europos Sąjungoje¹. Pagrindiniai filtrai yra pateikiami 1.1 lentelėje.

1.1 lentelė. Junginių, kuriuos pagal ES teisės aktus galima naudoti kaip UV filtrus kosmetikos gaminiuose, sąrašas [18]

INCI ² pavadinimas	CAS numeris	Maksimali konc., %
Benzofenono junginiai		
Benzofenonas-3	131-57-7	10
Benzofenonas-4	4065-45-6	5
Benzofenonas-5	6628-37-1	5
Dietilamino hidroksibenzoilo heksilbenzoatas	302776-68-7	10
<i>p</i> -aminobenzenkarboksirūgšties (PABA) junginiai		
Etoksilintas etil-4-aminobenzoatas	116242-27-4	10
Etilheksildimetil- <i>p</i> -aminobenzenkarboksirūgštis	21245-02-3	8

¹ <https://www.echa.europa.eu/cosmetics-uv-filters>

² Tarptautinė kosmetikos ingredientų nomenklatūra

1.2 lentelė. Tęsinys

INCI ³ pavadinimas	CAS numeris	Maksimali konc., %
Salicilatai		
Homosalatas	118-56-9	10
2-etilheksilsalicilatas	118-60-5	5
Cinamatai		
Etilheksilmetoksicinamatas	5466-77-3	10
Izoamilo <i>p</i> -metoksicinamatas	71617-10-2	10
Benzimidazolo junginiai		
Fenilbenzimidazolo sulfonrūgštis	27503-81-7	8
Dinatrio fenildibenzimidazolo tetrasulfonatas	180898-37-7	10
Benzotriazolo junginiai		
Drometrizolio trisiloksanas	155633-54-8	15
Metileno bis-benzotriazolil-tetrametilbutilfenolis	103597-45-1	10
Kamparo junginiai		
Tereftalilideno dikamporo sulfonrūgštis	92761-26-7	10
Benzilideno kamparo sulfonrūgštis	56039-58-8	6
Kamparo benzalkonio metosulfatas	52793-97-2	6
4-metilbenzilidenkamparas	38102-62-4	4
Poliakrilamidometilbenzilidenkamparas	113783-61-2	6
Triazino junginiai		
Dietilheksilbutamido triazonas	154702-15-5	10
Fenileno bis-difeniltriazinas	55514-22-2	5
Etilheksiltriazolas	88122-99-0	5
Bis-etilheksiloksifenolio metoksifeniltriazinas	187393-00-6	10
Kiti		
Butilmetoksidibenzoilmetanas	70356-09-1	5
Oktokrilenas	6197-30-4	10
Polisilikonas-15	207574-74-1	10
Metoksipropilamino cikloheksenilideno etoksietilcianoacetatas	1419401-88-9	3
Cinko oksidas	1314-13-2	25
Titano dioksidas	13463-67-7	25

1.2.1. Neorganiniai (mineraliniai, fiziniai) filtrai

Cinko oksidas ir titano dioksidas yra veiksmingi ir labiausiai paplitę apsaugantys nuo saulės spinduliuotės junginiai, vadinami neorganiniais, arba fiziniais, UV filtrais. Šios medžiagos užtikrina plataus spektro apsaugą nuo UVA ir UVB spindulių, kadangi geba atspindėti ir išsklaidyti šviesą [19].

³ Tarptautinė kosmetikos ingredientų nomenklatūra

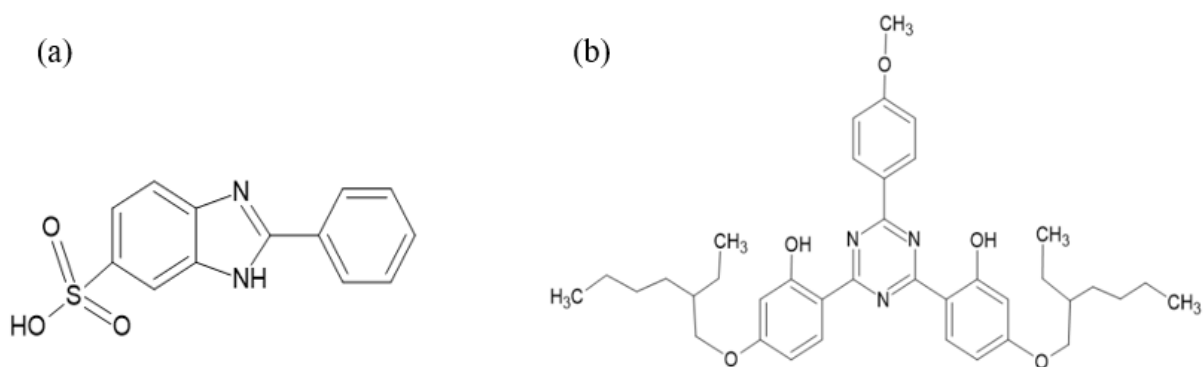
Lyginant su organiniais UV filtrais, šie junginiai yra laikomi saugiais, mažiau dirgina odą, todėl tinka kasdieniam naudojimui net ir asmenims turintiems jautrią odą ar lėtinių odos sutrikimų [20].

Senesnės kompozicijos kosmetikos produktai su neorganiniais filtrais palikdavo baltą arba nepermatomą plėvelę bei grūdėtus likučius odos paviršiuje, kurie kenkė estetiniam vaizdui. Tačiau naujos kartos nanotechnologijomis grįstos formuliacijos pasižymi geresnėmis sklaidos savybėmis [21]. Tačiau, mokslininkai pastebėjo, kad sumažinus oksidų dalelių dydį, padidėjo jų fotokatalizinis aktyvumas, dėl kurio gali susidaryti reaktyviosios deguonies formos, galinčios pažeisti odą. Dėl šios priežasties yra tyrinėjamos įvairios medžiagos, kuriomis padengus nanodaleles būtų ne tik slopinamas fotokatalizinis aktyvumas, bet ir pagerinamos apsauginės nuo UV spindulių savybės [22]. Taip pat analizuojamas citotoksininis poveikis, kuris yra panašus kaip ir organinių UV filtrų, tačiau dėl mažesnio įsikverbimo į odą, pasižymi žemesniu bioaktyvumu [23]. Aplinkosaugininkai sunerimę dėl šių nanodalelių toksiškumo vandens organizmams, ypač koralinių rifų blukimo, vertina potencialią žalą ir ruošia grieštesnius reglamentavimo pasiūlyms [24].

1.2.2. Organiniai (cheminiai) filtrai

Organiniai UV filtrai veikia sugerdami didelės energijos ultravioletinius spindulius ir paversdami juos nekenksmingomis energijos formomis, tokiomis kaip šiluma arba ilgesnių bangų šviesa, kurios vėliau išsklaidomos nuo odos paviršiaus. Šie filtrai yra sudaryti iš organinių molekulių, turinčių vieną ar daugiau aromatinių žiedų (žr. 1.5 pav.). Pagrindinėje būsenoje šių molekulių konjuguoti elektronai yra žemiausiame energijos lygmenyje, o veikiami UV spinduliuotės, jie sugeria tam tikrą energijos kiekį ir pereina į sužadintą būseną, dėl kurios molekulė poliarizuojasi. Tuomet vyksta natūralus molekulės atsipalaidavimas ir grįžimas į pradinę būseną, bei sugertos energijos išskyrimas šilumos arba mažesnės energijos spinduliuotės pavidalu [25].

Didėjant informacijos kiekiui apie UV spindulių žalą, t.y. sukeliama fotosenėjimą, odos vėžį ir nudegimus šie filtrai yra naudojami vis dažniau, ne tik apsaugos nuo saulės priemonėse, bet ir kitose asmens priežiūros, ar net pramoniniuose produktuose, kaip plastikai, žemės ūkio chemikalai, tekstilė ir dažai [26].



1.5 pav. Organinių UV filtrų cheminės struktūros: a - INCI: Fenilbenzimidazolo sulfonrūgštis; b - INCI: Bis-etilheksiloksifenolio metoksifeniltriazinas

Yra daug skirtingų teiginių apie organinių filtrų toksiškumą žmonėms, vieni mokslininkai teigia, jog šie UV filtrai gali trikdyti lytinę ir skydliaukės hormonų pusiausvyrą [27]. Kiti dėl šios grėsmės nėra tokie užtikrinti, nors teigia, jog yra įrodyta apie šių filtrų absorbavimąsi į žmogaus kūną. Jų manymu,

daugumą išvadų buvo gautos iš gyvūnų *in vivo* ir *in vitro* tyrimų, o ne taikant klinikinius tyrimus, todėl yra reikalingi tolimesni eksperimentai, o šiuo metu esminis aspektas yra – šių filtrų naudojimas sumažina odos vėžio riziką [25]. Kenksmingas poveikis vandens ekosistemoms, augalams ir dirvožemio kokybei abiejonių nekelia [26].

1.2.3. Augalinės kilmės antriniai metabolitai

Augalai nuolat veikiami ultravioletinės spinduliuotės, tačiau jų sudėtyje esantys antriniai metabolitai suteikia natūralų atsparumą UV keliamai žalai (žr. 1.2 lentelę). Tokios medžiagos kaip fenoliniai junginiai, flavonoidai, antocianinai, karotinoidai, fenolinės rūgštys pasižymi antioksidacinėmis, antibakterinėmis, ir priešuždegiminėmis savybėmis. Yra tyrimų teigiančių, jog karotinoidai ir flavonoidai geba absorbuoti UVA ir UVB spindulius diapazone 200-400 nm [28]. Taip pat šiomis savybėmis pasižymi ir kitos botaninės kilmės medžiagos, kaip vitaminas E bei augalų ekstraktai, kuriuose yra didelis kiekis antrinių metabolitų - fenolinių junginių. Jų gebėjimas sugerti UV spindulius atsiranda dėl aromatiniuose žieduose esančių delokalizuočių, laisvai judančių, elektronų, kurie veikia, kaip organiniai UV filtrai, per konformacinius molekulinės pokyčius, pakeičia UV spinduliuotę į šilumą arba didesnės bangos ilgio spinduliuotę [19].

1.2 lentelė. Augalinės kilmės junginių, apsaugant nuo UV spinduliuotės, mechanizmai

Junginys	Apsaugos mechanizmas	Šaltinis
Vitaminas E	Apsaugo ląstelės membraną nuo oksidacinio streso. Slopina ląstelių pažeidimą, sukeltą UV spindulių (fotosenėjimą, lipidų peroksidaciją, fotokarcinogenezę).	[29] [30]
Fenoliniai junginiai	Slopina laisvuosius radikalus ir padeda išvengti lipidų, baltymų ir DNR pažeidimo. Palaiko tinkamą odos struktūrą, slopinant kolagenazę (fermentas skaidantis kolageną) ir elastazę (fermentas skaidantis elastiną).	[31] [30]
Fenolinės rūgštys	Slopindamos reaktyvias deguonies molekules ir palaikydamos glutathiono kiekį mažina oksidacinį stresą. Absorbuoja energingesnes UVB bangas.	[32] [33]
Flavonoidai	Flavonoidų molekulėse esančios dvigubos jungtys geba sugerti UV spindulius. Hidroksilo grupės, prijungtos prie aromatinių žiedų geba slopinti reaktyvias molekules, kurių sudėtyje yra deguonies.	[34]
Karotinoidai	Sugeria fotooksidacijos metu susidariusius peroksido ir singletinius molekulinio deguonies radikalus. Sugeria regimąją ir UV šviesą.	[35]
Vitaminas C	Slopina laisvuosius radikalus. Apsaugo tarpląstelines struktūras nuo oksidacinio streso, sudarydamas santykinai stabilų askorbilo radikalą. Regeneruoja vitaminą E.	[36]

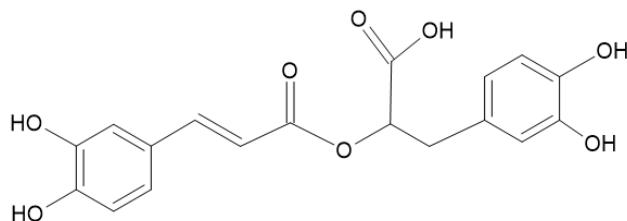
Augalinės kilmės UV filtrai yra laikomi saugesniais žmonėms, kadangi nėra duomenų, kad sukeltų alerginį dermatitą ar sutrikdytų endokrininę sistemą. Taip pat šie natūralūs junginiai nėra linkę užteršti vandens telkinius, dirvožemį, ar kitaip daryti ekologinę žalą [36]. Tikrasis vynmedis (lot. *Vitis vinifera* L.), didžioji alpinija (lot. *Alpinia galanga*), verbena (lot. *Lippia* spp.), dažinė ciberžolė (lot. *Curcuma longa*), žalioji arbata, alyvuogių lapai, svogūnų ir pasiflorų žievelės bei daug kitų natūralių ekstraktų buvo tiriami dėl gebėjimo apsaugoti nuo UV spinduliuotės [19][37].

Naudojant botaninės kilmės filtrus yra susiduriama su stabilumo ir tirpumo įvairiose kosmetikos produktų kompozicijose problema, todėl yra tiriamos įvairios nano pristatymo formos (angl. *nanodelivery form*): nanokapsulės, liposomos, nanoemulsijos, glicerosomos, norint visiškai pašalinti šią kliūtį [38]. Taip pat vertinant efektyvumą, yra tikimasi, kad natūralūs UV filtrai gali sumažinti sintetinių filtrų naudojimą ir tokiu būdu sukurti saugesnius ir labiau subalansuotus produktus, bet visiškai pakeisti sintetinius filtrus, nėra prognozuojama [36].

1.3. Raudonasis bazilikas

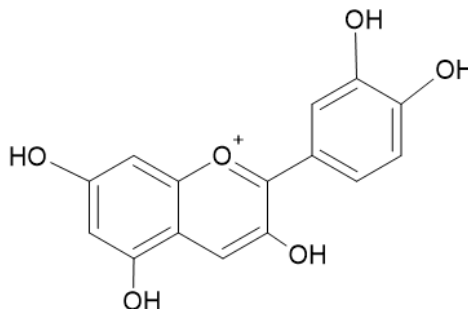
Bazilikai (lot. *Ocimum* L.) – tai plačiai auginami augalai, vertinami dėl gausios antrinių metabolitų koncentracijos, bei skaidulų, angliavandenių, baltymų, geležies, kalcio ar fosforo [39]. Tradiciškai, baziliko lapai yra plačiai naudojami tiek maisto pramonėje, tiek medicinoje, nes pasižymi antioksidacinėmis, antibakterinėmis, priešgrybelinėmis, priešuždegiminėmis ir raminančiomis savybėmis. Tačiau mokslinių tyrimų, nagrinėjančių kitų augalo dalių – pavyzdžiui, stiebų ar šaknų – cheminę sudėtį ar savybes, atlikta gerokai mažiau. Tarp plačiausiai žinomų baziliko veislių išskiriami: saldusis, raudonasis, citrininis, cinamoninis, anyžinis, smulkialapis bei krūminis [40]. Fenolinių junginių sudėtis raudonajame bazilike yra įvairi ir priklauso nuo veislės, auginimo sąlygų bei augalo vystymosi stadijos [41].

Tarp pagrindinių fenolinių rūgščių išskiriamos rozmarino (žr. 1.6 pav.), kavos, cikorijos ir ferulo rūgštys. Šios medžiagos pasižymi stipriu antioksidaciniu aktyvumu, kuris padeda neutralizuoti laisvuosius radikalus ir apsaugoti ląsteles nuo oksidacinio streso [42].



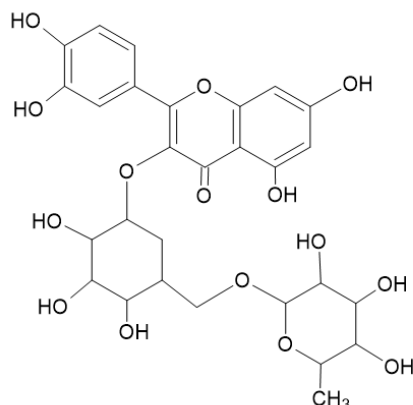
1.6 pav. Fenolinės rūgšties – rozmarino rūgšties cheminė struktūra

Flavonoidus, esančius raudonajame bazilike sudaro sudaro antocianinai, kurie pasižymi įvairiomis funkcijomis – geba pritraukti apdulkinančius vabzdžius [43], suteikia raudonai – violetinį pigmentą [44] bei apsaugo nuo UV spindulių poveikio. Taip pat yra antocianinų, sudarytų iš cianido junginių (žr. 1.7 pav.), kurie dalyvauja vegetatyvinių organų apsaugoje nuo biotinių ir abiotinių veiksnių [42].



1.7 pav. Antocianino – cianidino cheminė struktūra

Dažniausiai aptinkami flavonoidų pogrūčiai – flavonai ir flavonoliai, tokie kaip, rutinas (žr. 1.8 pav.), kvercetas, kaempferolis, miricetas bei apigeninas dalyvauja biologiniuose procesuose, pasižymi farmakologiniu aktyvumu [45].



1.8 pav. Flavonoido – rutino cheminė struktūra

Remiantis literatūra, visi raudonajame bazilike aptinkami biologiškai aktyvūs junginiai pasižymi gebėjimu neutralizuoti reaktyviasias deguonies formas, mažinti ląstelių oksidacinį pažeidimą, bei veikti fotoprotektiškai, todėl yra didelis potencialas naudoti šią medžiagą kaip funkcionalų ingredientą kosmetikos formulėse, skirtose apsaugoti nuo UV spinduliuotės.

1.4. Augalinių ląstelių kultivavimas *in vitro*

Totipotencija – tai savybė, leidžianti pavieniui augalo ląstelei tam tikromis sąlygomis atkurti visą augalą. Šis gebėjimas yra išskirtinis augalams, kadangi gyvūnų ląstelės dažniausiai praranda regeneracinį potencialą, kai visiškai diferencijuojasi. Šis principas pagrįstas tuo, kad kiekviena augalo ląstelė turi visą genetinę informaciją, būtiną visam augalui išsivystyti [46]. *In vitro* kultivavimo metodikos, kaip kaliaus, meristemų ar protoplastų kultūros auginimas, steriliomis, kontroliuojamomis sąlygomis išnaudoja totipotiškumą augalų dauginimui, genetinei inžinerijai, antrinių metabolitų gamybai ir augalų veislių gemalo išsaugojimui [47].

Jau 1989 m. Vakarų Anglijos universiteto tyrėjai pristatė biotechnologinę metodiką, leidžiančią išgauti ekstraktus iš augalų kaliaus kultūrų. Procesas prasideda nuo eksplanto – tai gali būti augalo ląstelė, audinio ar organo dalis – izoliavimo nuo pagrindinės augalo struktūros. Efektyviausiems rezultatams pasiekti dažniausiai naudojami audiniai, pasižymintys intensyviu ląstelių dalijimusi, pavyzdžiui, jauni lapai. Eksplantas sterilizuojamas siekiant pašalinti paviršiuje esančius mikroorganizmus, galinčius slopinti kultūrų vystymąsi mitybinėje terpėje. Tinkamas sterilizavimo sąlygų parinkimas ypač svarbus, kad nebūtų pažeisti gyvybiškai svarbūs audiniai. Vėliau sterilus eksplantas patalpinamas į maistinėmis medžiagomis ir augimo regulatoriais (pvz., auksiniais ir citokininais) praturtintą agarą pagrindo terpę *Petri* lėkštelėje, kurioje inicijuojamas kaliaus kultūros formavimasis. Susiformavusi kultūra vėliau perkeliama į skystą terpę be agarą, kurios sudėtis atitinka naudojamą ankstesniame etape. Tokiu būdu gaunama homogeninė ląstelių suspensija, kuri dėl intensyvesnio augimo ir vienodesnės sudėties yra pranašesnė už kietąją terpę. Kai ląstelių kiekis pakankamai padidėja, suspensija perkelinama į didesnius bioreaktorių, o galutiniame etape, naudojant tinkamą tirpiklį, išgaunami reikiami ekstraktai [48].

Optimizavus augimo sąlygas, maistinių medžiagų tiekimą ir augimo reguliatorių kiekius, *in vitro* kultūros leidžia išgauti didesnę specifinių biologiškai aktyvių junginių koncentraciją, nei tai būtų įmanoma natūraliomis sąlygomis [49]. Moksliniai tyrimai rodo, kad baziliko biologiškai aktyvių junginių kaupimasis gali būti veikiamas įvairių aplinkos veiksnių. Todėl audinių kultūros, auginamos kontroliuojamomis sąlygomis, kur abiotinių ir biotinių faktorių poveikis yra sumažintas, suteikia perspektyvių rezultatų tiriant skirtingas baziliko veisles [50].

Raudonojo baziliko kaliaus kultūroms auginti yra naudojami įvairūs augimo reguliatoriai ir skirtingi jų deriniai. Didesniam kaliaus kultūrų biomasės kiekiui formuoti yra naudojami auksino 2,4- dichlorfenoksiacto rūgšties ir citokinino kinetino [51] arba citokinino 6-benzilaminopurino [52] deriniai. Taip pat auksiną 1-naftilacto rūgštį derinant su citokininais – tidiazuronu [53] arba su 6- benzilaminopurinu [54]. Literatūroje aprašyta tyrimų, kai jau suformuota kaliaus biomasė perkeliama į naują mitybinę terpę, kuri savo sudėtyje turi elicitorių (pvz: mielių ekstraktą) t.y. medžiagą stimuliuojančią augalo apsauginį atsaką, tokiu būdu siekiant suaktyvinti bioaktyviųjų junginių sintezę [55]. Taip pat kuriamas išorinis stresas, veikiant skirtingomis melatonino koncentracijomis ir UVC spinduliuote arba naudojant jas kartu, siekiant išgauti didesnę antrinių metabolitų koncentraciją [53].

1.4.1. Kaliaus kultūrų naudojimas kosmetikoje

Inovatyvus kaliaus kultūrų panaudojimas kosmetikos pramonėje eksponentiškai didėja, kadangi reguliuojamose sąlygose užaugusi biomasė yra tvari ir pastovios standartizuotos sudėties bei leidžia panaudoti retus ar jautrius augalinius bioaktyvius ingredientus į kosmetikos formules. Šiuo metu rinkoje esančių kaliaus kultūrų ekstraktai: saliero (lot. *Apium graveolens*) – odos regeneracijai, o bruknė (lot. *Vaccinium vitis-idaea*), purpurinis sukutis (lot. *Lpomoea purpurea*), Taičio gardenija (lot. *Gardenia taitensis*) ir kvapnioji turberozė (lot. *Polianthes tuberosa*) – pasižymi senėjimą stabdančiu ir raukšlių gylį mažinančiu poveikiu. Žalioji arbata (lot. *Camellia sinensis*), tikrasis vynmedis (lot. *Vitis vinifera*), rausvoji rodolė (lot. *Rhodiola rosea* L.), plačialapis gyslotis (lot. *Plantago major* L.) ir tikrasis margainis (lot. *Silybum marianum* L.) – pasižymi antioksidacinėmis ir priešuždegiminėmis savybėmis. Sėjamas ryžis (lot. *Oryza sativa*) geba šviesinti odą, o pomidoras (lot. *Solanum lycopersicum*) ir paprastoji morka (lot. *Daucus carota*) giliai drėkinti. Riešutinio lotoso (lot. *Nelumbo nucifera*) kaliaus kultūros ekstraktas kontroliuoja perteklinį riebalų išsiskyrimą, palaiko švarios odos pojūtį. Visi šie ekstraktai yra gaminami JAV, Prancūzijos, Italijos, Ispanijos, Pietų Korėjos gamintojų ir tiekiami plačioms rinkoms [56]. Latvijoje taip pat yra gaminami komerciniai kaliaus kultūros ekstraktai, vienas iš jų paprastojo kadagio (lot. *Juniperus communis* L.), kuris pasižymi gebėjimu skatinti kolageno gamybą, apsaugoti odos keratinocitus nuo UV poveikio, stabdyti ląstelių senėjimą, mažinti melanino sintezę [49].

1.5. Literatūros apžvalgos apibendrinimas

Saulės spinduliuotės žala odai yra akivaizdi, tačiau vis didėja susidomėjimas ir lygiagrečiai daugėja tyrimų apie daromą žalą ir plaukų struktūrai – lipidams, baltymams, natūraliems pigmentams bei išoriniam estetiniam vaizdui – plaukų spalvai.

Organiniai ir neorganiniai UV filtrai yra plačiai naudojami kosmetikos pramonėje, tačiau be ryškių jų naudojimo privalumų, atsiranda ir tam tikri trūkumai. Neorganiniai UV filtrai arba suteikia kosmetikos produktų formuliacijoms baltą plėvelę, arba pritaikius nanodalelių technologiją keliamas klausimas dėl fotokatalizinio aktyvumo žmogui bei kenksmingumo vandens ekosistemoms.

Organiniai UV filtrai – galimai gali trikdyti lytinę ir skydliaukės hormonų pusiausvyrą, bei be abejonės sukelia kenksmingą poveikį vandens organizmams, augalams ir dirvožemiui.

Dėl šių priežasčių yra poreikis tyrinėti naujus, potencialiai veiksmingus botaninės kilmės UV filtrus, pavyzdžiui, raudonąją baziliką, kurio sudėtyje esantys biologiškai aktyvieji junginiai veikia tokiu pačiu principu kaip ir organiniai UV filtrai, tačiau jie yra saugūs žmonėms ir biologinėms sistemoms. Taikant augalinių ląstelių kultivavimą in vitro kontroliuojamomis sąlygomis galima išgauti dar didesnes reikiamų aktyviųjų junginių koncentracijas.

2. Medžiagos ir tyrimų metodai

2.1. Naudotos medžiagos

Projekto metu naudotos medžiagos: distiliuotas vanduo, NH_4NO_3 , KNO_3 , $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, KH_2PO_4 , KI, H_3BO_3 , $\text{MnSO}_4 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$, $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, $\text{Na}_2\text{MoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$, $\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$, $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, $\text{Na}_2\text{EDTA} \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, mioinozitolis, nikotino rūgštis, piridoksinas-HCl, tiaminas-HCl, glicinas, sacharozė, agar-agaras, 3-indolilacto rūgštis, 1-fenil-3-(1,2,3-tiadiazol-5-il)urėja, *L*-triptofanas, kalio persulfatas, 2,2'-azino-bis-(3-etilbenzotiazolino-6-sulfono) rūgštis (ABTS) radikalas, 2,2-difenil-1-pikrilhidrazilas (DPPH) radikalas, metanolis, kalio fericianidas, trichloracto rūgštis, Folino-Kiokalto reagentas, natrio karbonatas, druskos rūgštis, Arnovo reagentas, natrio šarmas, aliuminio chloridas, kvercetas, KCl buferis, NaOAc buferis, glicerolis, ksantanas, polivinilpirolidonas, citrinos rūgštis, fenoksietanolio ir etilheksilglicerino mišinys, fenilbenzimidazolio sulfono rūgštis, trietanolaminas, bis-etilheksiloksifenolio metoksifeniltriazinas, etilenodiaminetetraacto rūgštis, putonių sėklų aliejus, polisorbata 80, kaprilo/kaprio triglicerido mišinys, cetearilo alkoholis, cetilo alkoholis, vitaminas E, heksanas, chloroformas, metanolis, toluenas, etilacetatas ir skruzdžių rūgštis, primulino dažai, acetonas, heksano metiltretbutilo eteris, etanolis, vario acetatas, fosforo rūgštis, natrio karbonato – bikarbonato buferio tirpalas, karbamidas, ditiotreitolis, natrio laurilsulfatas, *Bio-Safe Coomassie* dažai, acto rūgštis, vandenilio peroksidas.

2.2. Raudonojo baziliko kaliaus kultūrų ekstraktų gavimas

2.2.1. Augalų ląstelių kultivavimas

Augalų ląstelėms kultivuoti būtina tinkama maistinė terpė bei išoriniai aplinkos veiksniai, tokie kaip šviesa ir temperatūra. *In vitro* sąlygomis augalų ląstelėms auginti naudojamos terpės sudarytos iš kelių pagrindinių komponentų: makro- ir mikroelementų, geležies šaltinio, organinių priedų, anglies šaltinio bei augimo reguliatorių.

Viena iš dažniausiai taikomų maistinių terpių augalų ląstelių auginimui *in vitro* yra Murashige ir Skoog (MS) terpė (žr. 2.1 lentelėje). Šios terpės pH yra 5,7–5,8. Prieš naudojimą mitybinė terpė yra sterilizuojama autoklave 121 °C, esant 0,75–1 atm. slėgiui, 15 min.

Steriliame laminare yra vykdomas raudonojo baziliko sėklų sterilinimas. Sėklos plaunamos 70 % etanoliu vieną minutę, po to – 0,1 % gyvsidabrio (II) chloridu aštuonias minutes, ir vėliau tris kartus plaunamos steriliu distiliuotu vandeniu. Po šios procedūros jos gali būti pasėjamos į *Petri* lėkšteles su maitinamąja terpe.

Eksperimento metu augalams kultivuoti palaikoma optimali 20–22 °C temperatūra ir taikomas nepertraukiamas apšvietimas (fotoperiodas). Reguliariai, kas tris savaites, eksplantai yra perkeliama į šviežią mitybinę terpę.

2.1 lentelė. Mitybinės Murashige ir Skoog (MS) terpės sudėtis

Reagentai	Koncentracija tirpale mg/l	Koncentracija terpėje mg/l
Makroelementai		
NH ₄ NO ₃	33000	1650
KNO ₃	38000	1900
CaCl ₂ · 2H ₂ O	8800	440
MgSO ₄ · 7 H ₂ O	7400	370
KH ₂ PO ₄	3400	170
Mikroelementai		
KI	166	0,83
H ₃ BO ₃	1240	6,2
MnSO ₄ · 4H ₂ O	4460	22,3
ZnSO ₄ · 7 H ₂ O	1720	8,6
Na ₂ MoO ₄ · 2 H ₂ O	50	0,25
CuSO ₄ · 5 H ₂ O	5	0,025
CoCl ₂ · 6H ₂ O	5	0,025
Geležies šaltinis		
FeSO ₄ · 7H ₂ O	5560	27,8
Na ₂ EDTA · 2H ₂ O	7460	37,3
Organiniai priedai		
Mioinozitolis	20000	100
Nikotino rūgštis	100	0,5
Piridoksinas-HCl	100	0,5
Tiaminas-HCl	100	0,5
Glicinas	400	2
Sacharozė		30000
Agar-agaras		5

Augalui pasiekus tinkamą dydį, jis yra išskaidomas į dalis – šaknys, stiebai bei lapai – ir perkeliamas į maitinamąsias terpes su augimo hormonais. Šio eksperimento metu iš auksinų buvo nuspręsta pasirinkti 3-indolilacto rūgštį (IAR) ir jo koncentracija 0,1 mg/l, iš citokininų – 1-fenil-3-(1,2,3-tiadiazol-5-il)urėją, dar vadinamą tiadiazuronu (TDZ), kurio koncentracija buvo keičiama nuo 0,5 mg/l iki 5 mg/l, bei 0,5 mg/l koncentracijos aminorūgštį *L*-triptofaną (TRP).

Po 6 savaičių susiformavusios kamieninės raudonojo baziliko ląstelės buvo džiovinamos kambario temperatūroje ir pasirinkus geriausiai su žmogaus plaukais ir oda suderinamą tirpiklį – vandenį, buvo paruošti ekstraktai [57].

2.2.2. Ekstrakto paruošimo procedūra

Išdžiovinta raudonojo baziliko kaliaus kultūros biomasė (1 g) 45 min ekstrahuojama 18 ml distiliuoto vandens, kai temperatūra yra 60 °C. Gautas ekstraktas centrifuguojamas 10 min 9000 aps/min ir naudojamas tyrimams.

2.2.3. Baziliko kaliaus kultūrų ekstraktų antioksidacinis aktyvumas

Projekto metu antioksidacinis aktyvumas buvo vertinamas trimis skirtingais metodais: ABTS, DPPH ir redukciniu. Visi matavimai buvo atlikti spektrofotometru.

2.2.3.1. Antiradikalinio aktyvumo nustatymas ABTS metodu

ABTS metodas yra pagrįstas radikalo anijono slopinimu. Mėlynai žalios spalvos radikalas yra gaunamas ištirpinant 2 mM 2,2'-azino-bis-(3-etilbenzotiazolino-6-sulfono) rūgštį 0,17 mM kalio persulfato tirpale. Gautas tirpalas praskiedžiamas, kad šviesos sugertis 734 nm bangos ilgyje būtų intervale 1,0 – 1,5. Praskiestas ABTS tirpalas kiekvieną kartą atliekant naują eksperimentą yra ruošiamas iš naujo.

Sumaišoma 0,5 ml ekstrakto, 1,7 ml 20 mM fosfato buferio ir 0,3 ml praskeisto ABTS tirpalo. Šviesos sugertis matuojama 734 nm bangos ilgyje. Slopinimas apskaičiuojamas pagal formulę:

$$\% \text{ slopinimas} = [(A_B - A_A) / A_B] \times 100; \quad (2.1)$$

čia A_B – praskiesto ABTS tirpalo šviesos sugerties dydis.

A_A – tiriamojo augalų ekstrakto šviesos sugerties dydis.

2.2.3.2. Antiradikalinio aktyvumo nustatymas DPPH metodu

Fenoliniai junginiai pasižymi gebėjimu inaktyvuoti laisvuosius radikalus, todėl šio metodo metu yra stebima, kiek procentų stabilaus 2,2-difenil-1-pikrilhidrazilo (DPPH) radikalo yra neutralizuojama.

0,2 g baziliko biomasės ir 2 ml distiliuoto vandens homogenizuojama 10 min ir centrifuguojama 9000 aps/min 10 min, surenkant supernatantą. Ruošiamas etaloninis tirpalas, kai 0,0024 g DPPH radikalo yra ištirpinama 100 ml metanolio. Tuomet į mėgintuvėlį įpilant 3 ml etaloninio tirpalo ir 0,077 ml gauto tiriamojo ekstrakto yra gaunamas tiriamasis mėginys, kurio šviesos sugertis išmatuojama spektrofotometriškai (bangos ilgis 515 nm) po 15 min laikymo tamsoje. Palyginimasis tirpalas ruošiamas maišant 3 ml DPPH tirpalo ir 0,077 ml distiliuoto vandens. Slopinimas apskaičiuojamas pagal formulę:

$$\% \text{ slopinimas} = [(A_B - A_A) / A_B] \times 100; \quad (2.2)$$

čia A_B – palyginamojo tirpalo šviesos sugerties dydis.

A_A – tiriamojo tirpalo šviesos sugerties dydis.

2.2.3.3. Redukcinių savybių nustatymas

Šio metodo metu yra vykdomas kalio fericianido $K_3[Fe(CN)_6]$ redukavimas į kalio ferocianidą $K_4[Fe(CN)_6]$.

Sausa raudonojo baziliko biomasė (0,1 g) ekstrahuojama 30 min 45 °C 5 ml distiliuotame vandenyje. Gautas ekstraktas centrifuguojamas. Į mėgintuvėlį supilama 0,5 ml ekstrakto, 1,25 ml 0,2M fosfatinio buferio ir 1,25 ml 1 % $K_3[Fe(CN)_6]$ bei inkubuojama 50 °C temperatūroje 20 min. Tada dar pridedama 1,25 ml 10 % trichloracto rūgšties ir sumaišoma. 1,25 ml gauto tirpalo sumaišoma su

1,25 ml distiliuotu vandeniu ir 0,25 ml 0,1 % FeCl_3 , bei išmatuojama šviesos sugertis 700 nm bangos ilgyje. Didesnė šviesos sugertis reiškia intensyvesnes redukcines savybes.

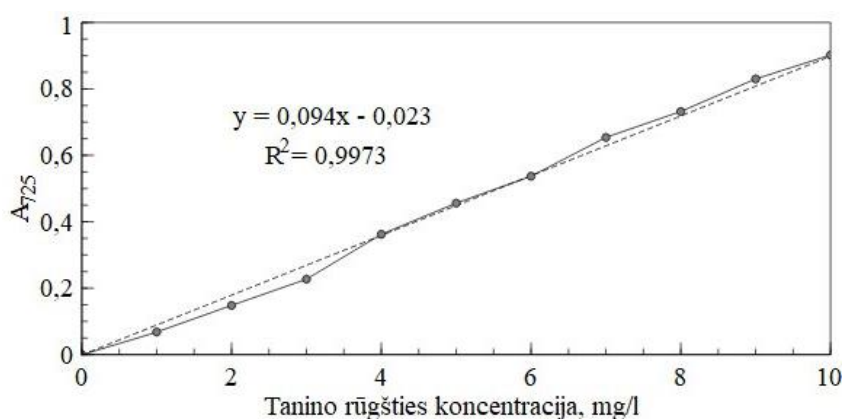
2.2.4. Biologiškai aktyviųjų junginių įvertinimas ekstraktuose

2.2.4.1. Bendrosios fenolinių junginių koncentracijos nustatymas

Į mėgintuvėlį pasverama 0,05 g sausos baziliko kaliaus kultūros biomasės ir įpilama 10 ml distiliuoto vandens. Tiriamasis mėginys maišomas 20 min kratytuve kambario temperatūroje ir vėliau centrifuguojamas 10 min 9000 aps/min 4 °C. Po to, jei reikia, mėginys centrifuguojamas 2 min *Eppendorf* tipo mėgintuvėliuose. Supernatantas (30 μl) praskiedžiamas iki 500 μl , pridedama 250 μl Folino-Kiokalto reagento ir įpilama 1,25 ml 7,5 % natrio karbonato tirpalo. Sumaišius laikoma tamsoje 40 min ir absorbcija matuojama 725 nm pagal tanino rūgšties kalibracinę kreivę (žr. 2.1 pav.) (mg/100 g) pagal formulę:

$$x = aV \times 100/n; \quad (2.3)$$

čia a – tanino rūgšties koncentracija iš kalibracinės kreivės, mg/l; V – pradinis ekstrakto tūris, l; n – augalinė masė, g



2.1 pav. Tanino rūgšties kalibracinė kreivė

2.2.4.2. Bendrosios fenolinių rūgščių koncentracijos nustatymas

Sausa raudonojo baziliko biomasė (0,1 g) homogenizuojama 2,5 ml distiliuotame vandenyje. Mišinys 30 minučių homogenizuojamas kratytuve 25 °C temperatūroje. Po to mėginys centrifuguojamas 10 minučių, esant 9000 aps/min greičiui, o gautas 1 ml supernatanto praskiedžiamas distiliuotu vandeniu iki 5 ml tūrio.

Analizei 1 ml šio ekstrakto sumaišoma su 1 ml druskos rūgšties (18 g/l), 1 ml Arnovo reagentu, 1 ml natrio šarmo (40 g/l) ir praskiedžiama distiliuotu vandeniu iki 10 ml.

Kontrolinis mėginys paruošiamas taip: į mėgintuvėlį įpilama 1 ml HCl (18 g/l), 1 ml Arnovo reagentu, 1 ml natrio šarmo (40 g/l), ir tūris papildomas distiliuotu vandeniu iki 10 ml.

Šviesos sugertis matuojama 490 nm bangos ilgyje.

Fenolinių rūgščių koncentracija pagal kavos rūgštį % apskaičiuojama iš formulės:

$$\% = \frac{A \times 1,7544}{m}; \quad (2.4)$$

čia, A – šviesos sugerties reikšmė; m – augalinė masė, g.

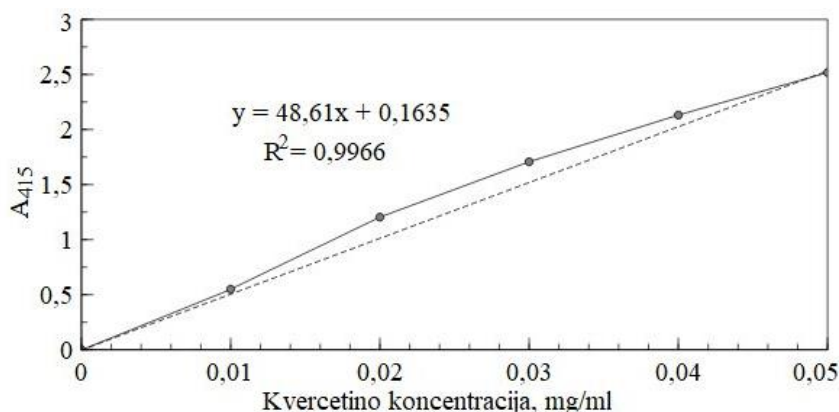
2.2.4.3. Flavonoidų koncentracijos nustatymas

0,2 g susmulkintos baziliko biomasės sumaišoma su 2 ml 80 % distiliuoto vandens ir parą 150 aps/min greičiu termostatuojamame kratytuve vykdoma ekstrakcija. Gautas ekstraktas centrifuguojamas 10 minučių 9000 aps/min greičiu, o supernatantas naudojamas tolimesnei analizei.

Bendroji flavonoidų koncentracija nustatoma naudojant aliuminio chlorido metodą. Į 0,1 ml ekstrakto įpilama distiliuoto vandens iki 1 ml tūrio ir 1 ml 2 % aliuminio chlorido tirpalo. Mišinys paliekamas 30 minučių kambario temperatūroje, o po to šviesos sugertis matuojama 415 nm bangos ilgyje. Flavonoidų koncentracija apskaičiuojama pagal kvercetino kalibracinę kreivę (žr. 2.2 pav.), o koncentracija mg/g pagal kvercetiną apskaičiuojama naudojant formulę:

$$C = \frac{C_1 \times V}{g}; \quad (2.5)$$

čia, C_1 – kvercetino koncentracija mg/ml pagal kalibracinę kreivę; V – ekstrakto pradinis tūris, ml; g – augalinė masė, g



2.2 pav. Kvercetino kalibracinė kreivė

2.2.4.4. Bendrosios antocianinų koncentracijos nustatymas

Į mėgintuvėlį pasverama 0,2 g raudonojo baziliko kaliaus kultūros sausosios biomasės ir įpilama 5 ml distiliuoto vandens. Mišinys homogenizuojamas 15 minučių 25 °C temperatūroje. Gauta homogeninė masė centrifuguojama 10 minučių, esant 9000 aps/min greičiui. Supernatantas surenkamas ir naudojamas tolimesnei analizei.

Spektrofotometriniais matavimams 1 ml gauto ekstrakto atskirai sumaišomas su 980 µl KCl buferio (pH 1) ir 980 µl natrio acetato (NaOAc) buferio (pH 4,5). Abiem atvejais šviesos sugertis matuojama 510 nm ir 700 nm bangos ilgiuose. Kontrolinis (tuščias) mėginys – distiliuotas vanduo.

Bendroji antocianinų koncentracija apskaičiuojama naudojantis formule:

$$BAK = (A \times M \times PF) \times \frac{1000}{\epsilon}; \quad (2.6)$$

Čia, BAK – bendroji antocianinų koncentracija miligramai cianidin-3-gliukozido ekvivalento 100 g; A – absorbcija = $(A_{510 \text{ nm}} - A_{700 \text{ nm}}) \text{ pH } 1 - (A_{510 \text{ nm}} - A_{700 \text{ nm}}) \text{ pH } 4,5$; M – molekulinė masė (449,2 g/mol); PF – praskiedimo faktorius; ϵ – cianidin-3-gliukozido (Cy3G) molinis adsorbcijos koeficientas (26900 l/mol · cm).

2.3. Kosmetikos produktų gavimas

Projekto metu buvo gaminamos trijų tipų kompozicijos. Pirminė formuliacija (I) – tai gelinė bazė, naudota kaip pagrindas visoms tolesnėms formulėms. Matavimo stiklinėje ruošiamas tirpalas į kurio sudėtį įeina 2 % glicerolio, 0,2 % ksantano ir distiliuoto vandens iki 100%. Ingredientams ištirpus, matavimo stiklinė yra šildoma iki 40 °C ir tuomet yra įdedamas 1% polivinilpirolidono (PVP), kurio paskirtis yra sudaryti fizinę plėvelę plauko paviršiuje. Mišiniui atvėsus iki kambario temperatūros, naudojant 10% citrinų rūgštį yra reguliuojamas pH iki $4,5 \pm 0,2$ ir galiausiai įdedamas 1 % konservantų fenoksietanolio ir etilheksilglicerino mišinio.

Formuliacija, įterpiant vandenyje tirpų UVB spindulius absorbuojantį filtrą (II) yra ruošiamą identiška kaip ir I, tačiau yra vienas esminis skirtumas. Cheminis UV filtras *Parsol*[®] HS (INCI: Fenilbenzimidazolo sulfonrūgštis) ⁴ tirpsta kai pH yra > 5,6, todėl yra svarbu jį ištirpinti atskiroje matavimo stiklinėje, naudojant šarminantį agentą – trietanolaminą, ir tik tada supilti į pagrindinę stiklinę, kurioje yra glicerolis, ksantanai, PVP ir distiliuotas vanduo.

Kompozicija III, į kurią yra įterpiamas aliejuje tirpus, plataus spektro (UVB ir UVA spindulius absorbuojantis) filtras *Parsol*[®] Shield (INCI: bis-etilheksiloksifenolio metoksifeniltriazinas) ⁵ yra aliejus vandenyje (A/V) emulsija, o ne gelis. Pirmoje matavimo stiklinėje yra paruošiamas I kompozicijos atitikmuo ir įdedama 0,1 % etilenodiaminetetraacto rūgšties (EDTA), kuri yra chelatinimo agentas, skirtas pagerinti produkto stabilumą. Antroje stiklinėje yra pagaminamas 10 % putonių sėklų aliejaus ir 5 % kaprilo/kaprio triglicerido mišinys, kuriame pašildžius iki 50 °C yra tirpinamas *Parsol*[®] Shield. Trečioje stiklinėje ruošiamas emulsiklių derinys: 4 % polisorbato 80, 2 % cetearilo alkoholio ir 1 % cetilo alkoholio. Emulsikliams pasiekus 50 °C temperatūrą, jie ištirpsta, todėl galima lėtai įmaišyti aliejinę fazę (antrosios stiklinės turinį). Mišiniui atvėsus iki 40 °C yra įdedamas vitaminas E. Naudojant homogenizatorių *T 25 ULTRA-TURRAX*[®] (*IKA-Werke GmbH & Co*, Vokietija) ir esant vienodos temperatūros vandeninei ir aliejinei fazėms, yra gaunamas kremo konsistencijos produktas.

2.3.1. Kosmetikos produktų pH matavimas

Kosmetikos gaminiuose itin svarbu užtikrinti tinkamą pH lygį, nes esant skirtingai pH vertei, keičiasi plaukų porėtumas. Veikiami šarminės terpės plauko žvyneliai atsiveria, mažėja plaukų baltymų jungčių tankis (angl. *cross-linking density*), todėl vandens ir cheminių medžiagų prasiskverbimas į plauko žievę didėja. Tai yra naudinga dažant plaukus bei taikant ilgalaikio tiesinimo ar garbanojimo technikas. Rūgštinėje terpėje procesas atvirkščias, plauko žvyneliai yra uždari, patys plaukai linkę sugerti mažiau vandens [58]. Naudojant ekstremaliai žemos pH (< 3) produktus trumpą laiką, keratinų denatūracijos temperatūra gali padidėti 5 °C [59]. Dėl šios priežasties I, III, I-B ir III-B kompozicijų pH buvo reguliuojamas iki $4,5 \pm 0,2$, naudojant 10 % citrinų rūgšties tirpalą. Tačiau formuliacijose su vandeniu tirpiu UV filtru (II ir II-B) buvo paliekama pirminė produkto pH, kuri siekė $5,7 \pm 0,1$ dėl

⁴ <https://www.dsm-firmenich.com/en/businesses/perfumery-beauty/beauty-care/products/parsol-hs.html>

⁵ <https://www.dsm-firmenich.com/en/businesses/perfumery-beauty/beauty-care/products/parsol-shield.html>

cheminio filtro stabilumo išlaikymo. Nustatyti pH buvo ruošiami 10 % produktų vandeniniai tirpalai, o matavimams atlikti naudotas pH matuoklis *Orion Star A111* (Thermo Scientific).

2.3.2. Stabilumo tyrimas

Stabilumas vertinamas dviem metodais: standartinėmis kritinėmis sąlygomis⁶, kurios yra pritaikomos emulsijų stabilumui tirti ir mechaninio streso testas [60], kuris tinka gelinės tekstūros kompozicijoms.

Standartinių kritinių sąlygų eksperimento metu 15 ml plastikiniai mėgintuvėliai yra pripildomi 10 g tiriamosios medžiagos ir šildoma vandens vonelėje iki 50 °C temperatūros. Mėginiams sušilus jie yra centrifuguojami 30 min, nustačius 3000 aps/min ir 20 °C. Gelinėms kompozicijoms taikomo mechaninio streso testo metu 15 ml plastikiniai mėgintuvėliai yra pripildomi 10 g tiriamosios medžiagos ir centrifuguojami 4800 aps/min ir 20 °C.

Atlikus tyrimą, medžiagų stabilumas įvertinamas vizualiai, stebint, ar pasireiškia fazių atsiskyrimas. Jei yra pastebima destabilizacija, tuomet yra nustatomas išsisluoksniavimo indeksas I , % taikant šią formulę [61]:

$$I = \frac{H_s}{H_p} \times 100; \quad (2.7)$$

čia, H_s – atsiskyrusio sluoksnio aukštis, cm; H_p – viso produkto aukštis, cm.

2.3.3. Klampos matavimas

Emulsijų klampai nustatyti buvo naudojamas rotacinis viskozimetras *Cgoldenwall NDJ- 5S* (*Cgoldenwal*, Kinija). Matavimams atlikti naudota po 200 g 19 ± 1 °C temperatūros kiekvieno mėginio. Dėl skirtingos produktų klampos buvo taikomos skirtingos geometrijos, bet nustatomas vienodas sukimosi greitis – 30 aps/min. I kompozicijai buvo naudotas L2 velenas, II, I-B ir II-B parinktas L1 darbinis kūnas, o III ir III-B nuspręsta matuoti su L3 velenu.

Po kiekvieno matavimo viskozimetro darbinė dalis buvo kruopščiai nuplaunama distiliuotu vandeniu ir nusausinama popierine servetėle. Matavimai buvo kartojami 3 kartus, galutinis rezultatas – šių matavimų aritmetinis vidurkis.

2.4. Kosmetikos produktų efektyvumo nustatymas

2.4.1. Plaukų mėginių veikimas UV spinduliuote

Pasverinama $0,9 \pm 0,1$ g plaukų mėginio ir išsklaidoma, jog nei vienas plaukas nebūtų uždengiamas. Paruoštas bandinys yra išplaunamas pagal *TRI Princeton* nustatytą metodiką. Naudojamas 40 °C krano vanduo, tekėjimo greitis – 3,79 l/min. Mėginys yra pilnai sušlapinamas per pirmas 30 sekundžių, tuomet naudojant 10 % nuo bandinio masės šampūno kiekiu masažuojamas 30 s, ir galiausiai skalaujamas 30 s. Po plovimo, mėginys yra nusausinamas, padengiamas 10 % nuo plaukų masės pasirinktu produktu ir džiovinamas 1 min plaukų džiovintuvu.

Paruošti bandiniai yra laikomi *Q-Sun 3100* (*Q-Lab Corporation*, JAV) meteorometre, kuriame 1 val priliegsta 4,5 val natūralios saulės šviesos Nevadoje [62]. Nustačius 0.67 W/m^2 spinduliuotės tankį

⁶ <https://oxfordbiosciences.com/stability-testing>

ir 60 % santykinę drėgmę, mėginiai yra 1 valandą veikiami plataus spektro šviesa – regimąja, infraraudonąja ir ultravioletine.

Pasibaigus pirmam ciklui viskas kartojama iš pradžių, tiek kartų, kiek ciklų yra pageidaujama įvykdyti.

2.4.2. Plaukų lipidų klasių ir jų koncentracijų nustatymas (HPTLC)

Lipidų klasėms įvertinti plaukų mėginiuose pirmiausia buvo vykdoma lipidų ekstrakcija. Pasveriami 20–22 mg plaukų mėginio ir kambario temperatūroje purtoma, kas 48 valandas pakeičiant į didesnio poliškumo tirpiklį: heksanas, chloroformas ir metanolis santykiu 2:1, chloroformas ir metanolis santykiu 1:1, chloroformas ir metanolis santykiu 1:2. Šviežias tirpiklis buvo keičiamas kas 24 valandas, o skirtingi ekstrakcijos etapai buvo sujungti į vieną indą. Tirpikliai buvo išgarinti naudojant azoto dujas, o gautos nuosėdos ištirpintos 1 ml chloroformo ir metanolio santykiu 2:1 mišinyje.

Gauti lipidų mėginiai buvo analizuojami aukštos skiriamosios gebos plonasluoksnės chromatografijos metodu (*angl.* HPTLC), *CAMAG PRO* instrumentu (*CAMAG Scientific*, Šveicarija). Ant silicio dioksidu padengtos plokštelės buvo užpurkšta 2 µl, 4 µl, 7 µl, 14 µl ir 20 µl ekstrahuotų lipidų tirpalo.

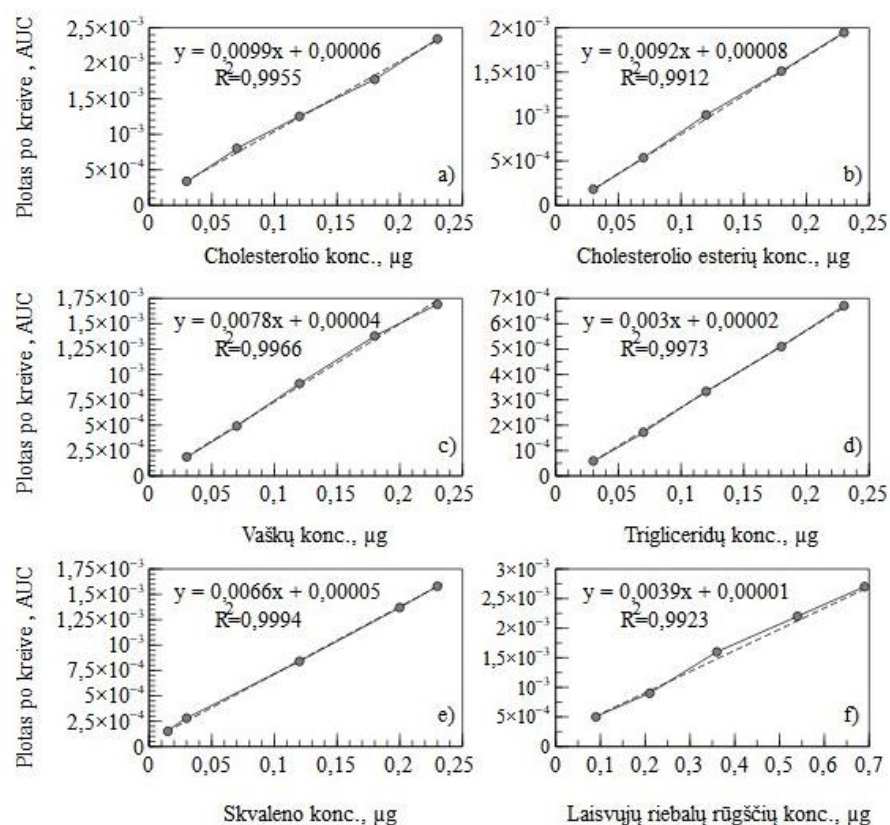
Skvalenas buvo atskirtas naudojant heksaną iki 80 mm. Vaškai, trigliceridai ir riebalų rūgščių metilo esteriai buvo atskirti naudojant tolueno, etilacetato ir skruzdžių rūgšties mišinį, atitinkamai santykiu 15 : 0,2 : 0,25 taip pat iki 80 mm. Plokštelėms dažyti buvo naudojamas primulino tirpalas. Šis tirpalas ruošiamas 0,02 % primulino dažų ištirpinus acetono ir vandens mišinyje 4 : 1. Nudažyta plokštelė buvo džiovinama šalto oro srove 5 min. Skenavimas buvo atliekamas naudojant gyvsidabrio lempą fluorescenciniu režimu 366 nm, skenavimo greitis 5/s, duomenų skiriamoji geba – 25 µm/žingsnį.

Poto laisvosios riebalų rūgštys buvo atskirtos dviem etapais: chloroformo, metanolio ir vandens mišiniu, santykiu – 72 : 27 : 3 iki 20 mm ir heksano, metiltretbutilo eterio, etanolio ir skruzdžių rūgšties mišiniu atitinkamai santykiu 40 : 15 : 1,75 : 1,5 iki 42 mm. Plokštelė buvo dažoma primulino dažais, o skenavimas atliekamas naudojant 405 nm gyvsidabrio lempą, fluorescenciniu režimu. Skenavimo greitis 5/s, duomenų skiriamoji geba – 25 µm/žingsnį.

Cholesterolui nustatyti plokštelės po riebiųjų rūgčių atskyrimo buvo dažomos naudojant 3 % vario acetato 8 % fosforo rūgšties tirpale. Plokštelė buvo džiovinama didelio greičio oro srove 5 min. Išdžiovinta plokštelė buvo kaitinama 120 °C temperatūroje 15 min. Skenavimas atliekamas naudojant 546 nm bangos ilgio gyvsidabrio lempą absorbcijos režime. Skenavimo greitis – 1/s, duomenų skiriamoji geba – 25 µm/žingsnį.

Duomenų analizė atliekama naudojant *Camag VisionCATS* programinę įrangą, nustačius eksperto režimą ir pasirinkus šiuos parametrus: Gauso sušvelninimas (*angl.* Gaussian smoothening) – 1, atskyrimas – 0,01, jautrumas – 10, slenkstis (*angl.* threshold) – 0,01.

Kiekybinis įvertinimas buvo atliktas naudojant analitinius standartus (žr. 2.3 pav.).



2.3 pav. Lipidų kalibracinės kreivės: a – cholesterolio; b – cholesterolio esterių; c – vaškų; d – trigliceridų; e – skvaleno; f – laisvųjų riebalų rūgščių

2.4.3. Plaukų baltymų struktūros pokyčių nustatymas

2.4.3.1. Diferencinė skenuojančioji kalorimetrija (DSC)

Baltymų struktūros pokyčiai įvertinami matuojant baltymų denatūracijos temperatūrą diferencinės skenuojančiosios kalorimetrijos (DSC) metodu.

Pagal *TRI Princeton* nustatytas metodikas išplautų plaukų terminės savybės buvo tiriamos naudojant *TA DSC25* prietaisą (*TA Instruments*, Jungtinės Amerikos Valstijos). Prieš bandymą prietaisas buvo kalibruojamas naudojant indžio standartą. Plaukai susmulkinami kuo mažesnėmis dalelėmis ir 10 ± 1 mg mėginio įdedama į hermetišką, aukšto slėgio tiglį kartu su 50 μl dejonizuotu vandeniu. Eksperimento metu šildymo greitis buvo $10^\circ\text{C}/\text{min}$. Kiekvienam mėginiui ruošiami 6 pakartojimai.

2.4.3.2. Natrio dodecilsulfato – poliakrilamido gelio elektroforezė (SDS-PAGE)

Keratinio ir su keratinu susijusių baltymų koncentracija buvo nustatoma natrio dodecilsulfato-poliakrilamido gelio elektroforezės metodu (SDS-PAGE).

Plaukų mėginiai po lipidų ekstrakcijos yra sukarpmi 1–2 mm ilgio gabaliukais. Vienam mėginiui yra pasveriami 10–11 mg plaukų, bei užpilama 500 μl baltymų ekstrakcijos tirpalu. Ekstrakcija vykdoma 6 valandas, $50\text{--}60^\circ\text{C}$ temperatūroje, ultragarso vonelėje. Tuomet, mėginiai yra centrifuguojami 15000 rpm greičiu, 30 min. Supernatanatas surenkamas ir naudojamas gelinės elektroforezės tyrime.

Baltymų ekstrakcijos tirpalas buvo sudarytas iš:

- pH 10 100 mM natrio karbonato – plaukams brinkinti;

- 100 mM ditiotreitolio (DTT) – redukuoti cistiną;
- 8 M karbamido – ardyti vandenilinius ryšius ir trikdyti hidrofobines sąveikas t.y. priežastį dėl ko keratinai denatūruoja;
- 2 % natrio laurilsulfato (SDS) – paviršinio aktyvumo medžiaga naudojama suteikti baltymams neigiamą krūvį ir trikdyti hidrofobines sąveikas t.y. priežastį dėl ko baltymų struktūra pasikeičia į linijinę.

Paruošiamas SDS-PAGE *Mini-PROTEAN Tetra Cell* (Bio-Rad Laboratories, Inc., JAV) eksperimento aparatas, įstatoma tyrimo kasetė, kurios kiekvienas šulinėlis yra praplaunamas 10 kartų. Į visus, išskyrus vieną, šulinėlį dedama 20 μ l baltymų mišinio (3:1 atitinkamai baltymų mėginys ir 4x *Laemmli* mėginio buferis). Į vieną šulinėlį dedamas 5 μ l standartinio baltymų tirpalo (10–250 kDa molekulinės masės baltymai). Nustatoma 25 mA srovės stipris ir vykdomas elektroferezės procesas, kuris trunka apie 1 val.

Po eksperimento, gelis yra plaunamas 3 kartus po 5 min distiliuotame vandenyje, kad būtų pilnai pašalintas natrio laurilsulfatas ir netrikdytų dažymo proceso. Nuplovus, gelis yra panardinamas į *Bio- Safe Coomassie* dažus ir švelniai purtomas 1,5 valandos. Galiausiai 3 kartus po 30 min gelis yra plaunamas, kad būtų pašalintas dažų perteklius su 50 % metanolio, 10 % acto rūgšties ir 40 % distiliuoto vandens tirpalu skiestu su vandeniu 7:3 santykiu.

Gelis fotografuojamas su *CAMAG – PRO* (CAMAG Scientific, Šveicarija) instrumentu, o naudojant *Image – J* programą nuotraukos yra koreguojamos, kad būtų tinkamos tolimesnei analizei. Pasinaudojus programa *Matlab GUI GelAnalysis* (TRI Princeton, JAV) yra išskiriamos ir kiekybiškai analizuojamos gelyje matomos baltymų juostos. Importavus gelio nuotrauką į programą yra pasirenkama dominanti sritis (ROI) baltymų juostoje, gautas intensyvumo profilis iš kurio atėmus triukšmą t.y. foninę sritį (angl. *background region* (BG)) ir pritaikius Gauso filtrą (angl. *Gaussian smoothing filter*) galima matyti tikslinių baltymų smailes. Rankiniu būdu pasirinkus tinkamas smailes ir tarp jų taikant trapecinę integraciją, yra apskaičiuojamas kreivės plotas (AUC).

2.4.4. Plaukų paviršinio sluoksnio pasikeitimų identifikavimas

Skenuojančios elektroninės mikroskopijos (SEM) vaizdai buvo gauti naudojant volframo gijos pagrindu veikiančią skenuojančią elektroninę mikroskopą *JEOL JSM-IT200LV* (JEOL Ltd, Japonija). Iš kiekvienos plaukų grupės buvo atsitiktinai parinkta dešimt plaukų. Plaukų mėginiai buvo pritvirtinti ant 2,5 cm skersmens nerūdijančio plieno disko, naudojant dvipusę varinę juostą, ir padengti maždaug 10 nm platinos sluoksniu. Buvo ištirtas bent 1 cm ilgio plauko paviršius. Buvo užfiksuoti reprezentatyvūs vaizdai. SEM vaizdavimas buvo atliktas esant 7 kV greitėjimo įtampai ir maždaug 10 mm darbiniam atstumui.

2.5. Statistinė rezultatų analizė

Statistinė analizė buvo atlikta naudojantis *JMPT™ 17.0.0 analytical software* (SAS Institute Inc., JAV). Statistiškai reikšmingi skirtumai pirmiausia buvo vertinami naudojant dispersinės analizės (ANOVA) testą, o vėliau – *Tukey-Kramer HSD* testą, taikant 95 % pasikliautinąjį lygį.

Grafikuose pateikti aritmetinių vidurkių duomenys $\pm$ atitinkami standartiniai nuokrypiai.

3. Tyrimų rezultatai ir jų aptarimas

Šio projekto metu buvo užaugintos raudonojo baziliko kaliaus kultūros bei pagaminti vandeniniai jų ekstraktai. Ištyrus ekstraktų biologinį aktyvumą, buvo sukurti tarpiniai bei galutiniai kosmetikos produktai, kurie apsaugo plaukų struktūrą nuo UV spindulių poveikio.

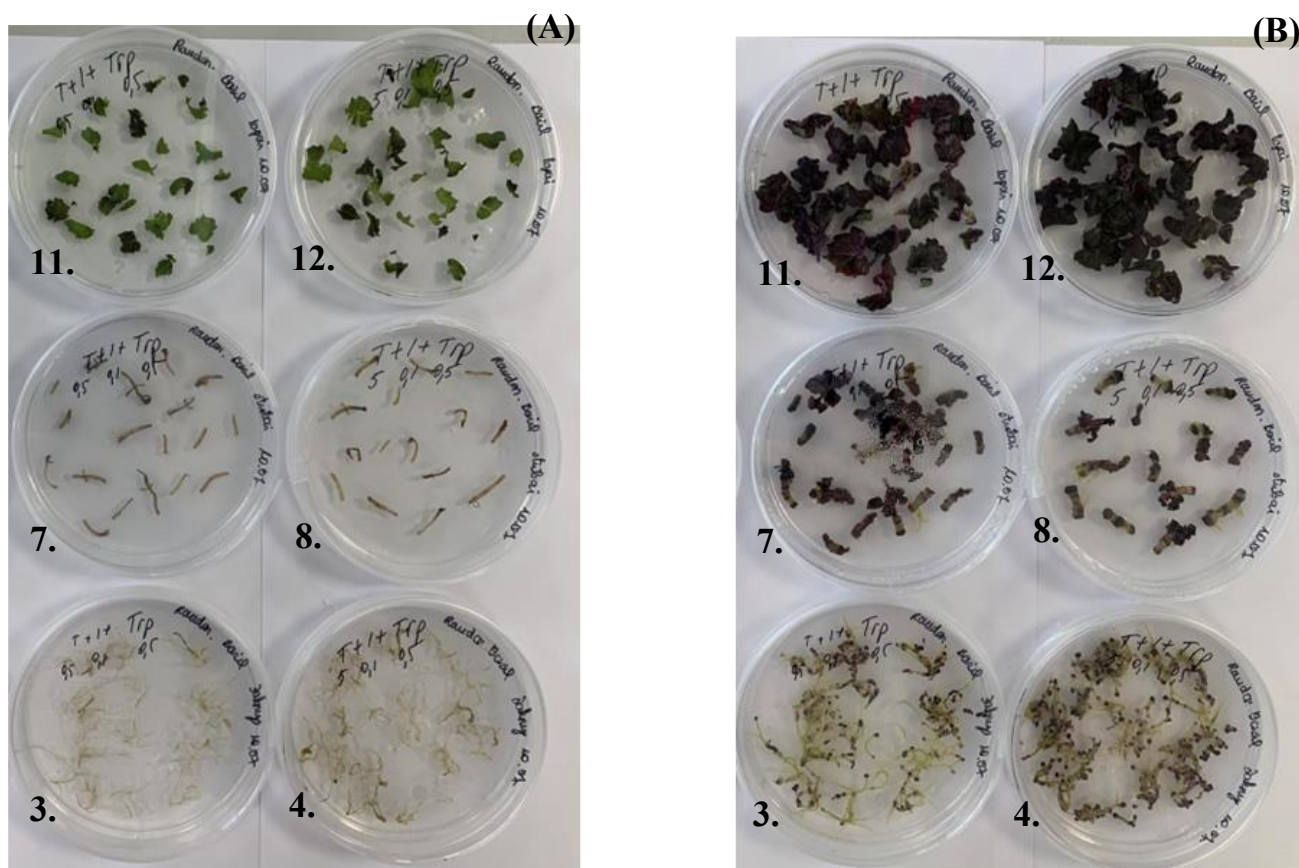
3.1. Raudonojo baziliko kaliaus kultūrų formavimasis

Eksperimento metu buvo kultivuojama 12 skirtingų raudonojo baziliko mėginių. Steriliomis sąlygomis MS agarą terpėje užauginti eksplantai buvo išskaidomi į tris dalis – šaknys, stiebai ir lapai, o kiekviena iš jų paskirstoma ant 4 skirtingų mitybinių terpių, derinant augimo reguliatorių koncentracijas ir aminorūgštį – *L*-triptofaną (žr. 3.1 lentelę).

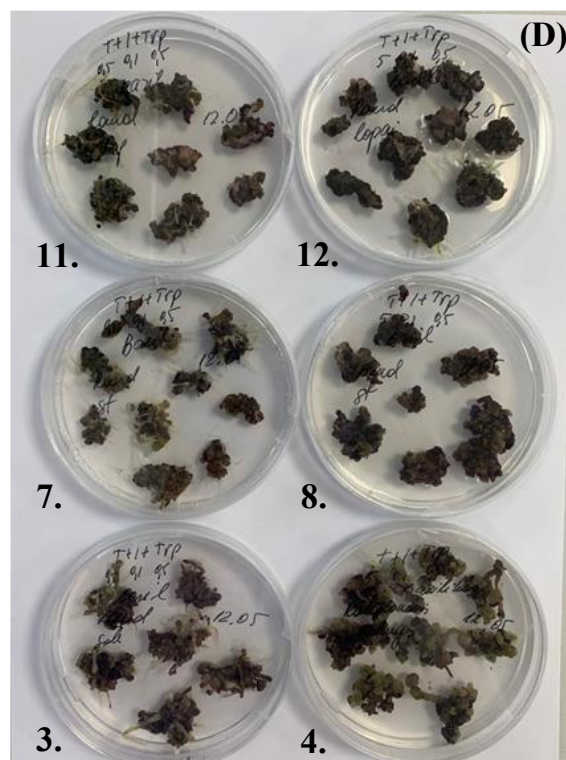
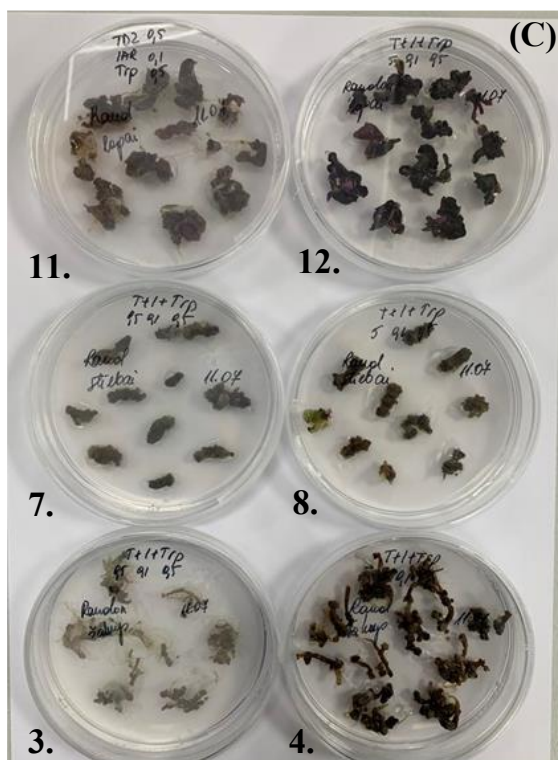
3.1 lentelė. Fitohormonai ir jų koncentracijos naudojami MS terpėse kaliaus kultūroms formuoti

	<i>Ocimum basilicum</i> var. <i>purpurascens</i> eksplantai											
	Šaknys				Stiebai				Lapai			
	1.	2.	3.	4.	5.	6.	7.	8.	9.	10.	11.	12.
3-Indolilacto rūgštis (IAR), mg/l	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1
Tidiazuronas (TDZ), mg/l	0,5	5	0,5	5	0,5	5	0,5	5	0,5	5	0,5	5
<i>L</i> -triptofanas (TRP), mg/l	-	-	0,5	0,5	-	-	0,5	0,5	-	-	0,5	0,5

Pilnas kaliaus kultūrų susiformavimas vyko 6 savaites (žr. 3.1 pav. ir 3.2 pav.). *Petri* lėkštelės buvo laikomos kambario temperatūroje, apšviestos 20 W, 4000 K, 1600 lm lempų šviesa.



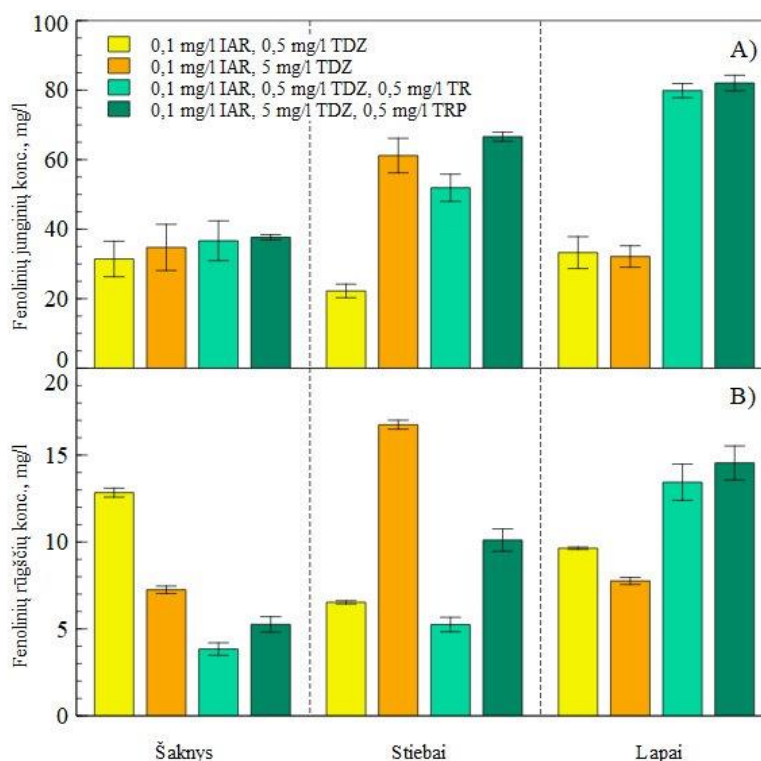
3.1 pav Kaliaus kultūrų formavimasis: (A) – pirmoji diena; (B) – po 14 d.



3.2 pav. Kaliaus kultūrų formavimasis: (C) – po 28d.; (D) – po 42 d.

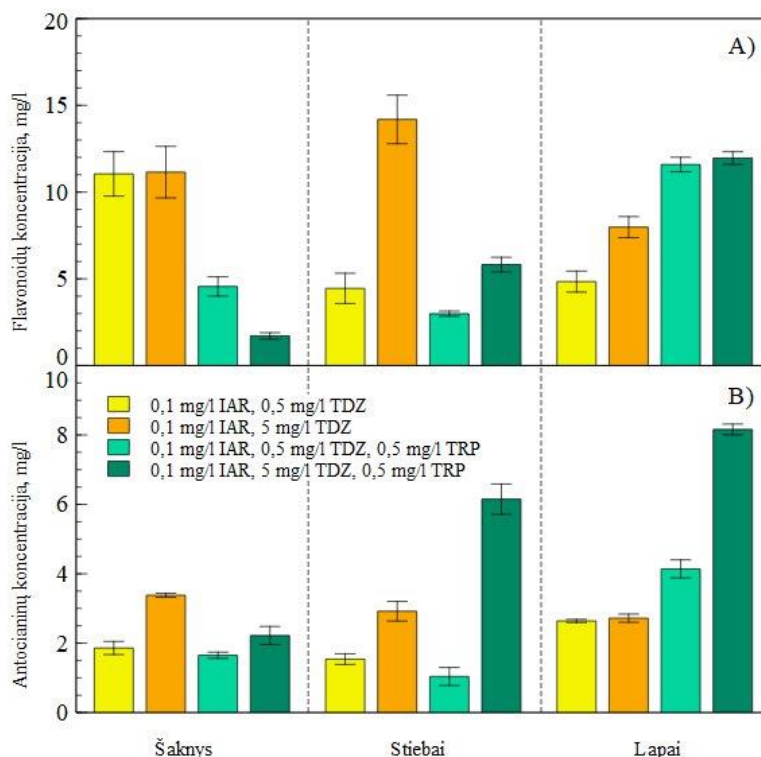
3.2. Raudonojo baziliko kaliaus kultūrų ekstraktų biologinis aktyvumas

Siekiant nustatyti kokią įtaką augimo reguliatoriai ir *L*-triptofanas turėjo bioaktyvių junginių koncentracijai kaliaus kultūrose buvo atliekami kiekybiniai matavimai. Jų metu nustatyti fenolinių junginių, fenolinių rūgščių, flavonoidų ir antocianinių koncentracijos.



3.3 pav. Biologiškai aktyviųjų junginių koncentracija įvairių augalų dalių kaliaus kultūrų ekstraktuose: A – fenolinių junginių, B – fenolinių rūgščių

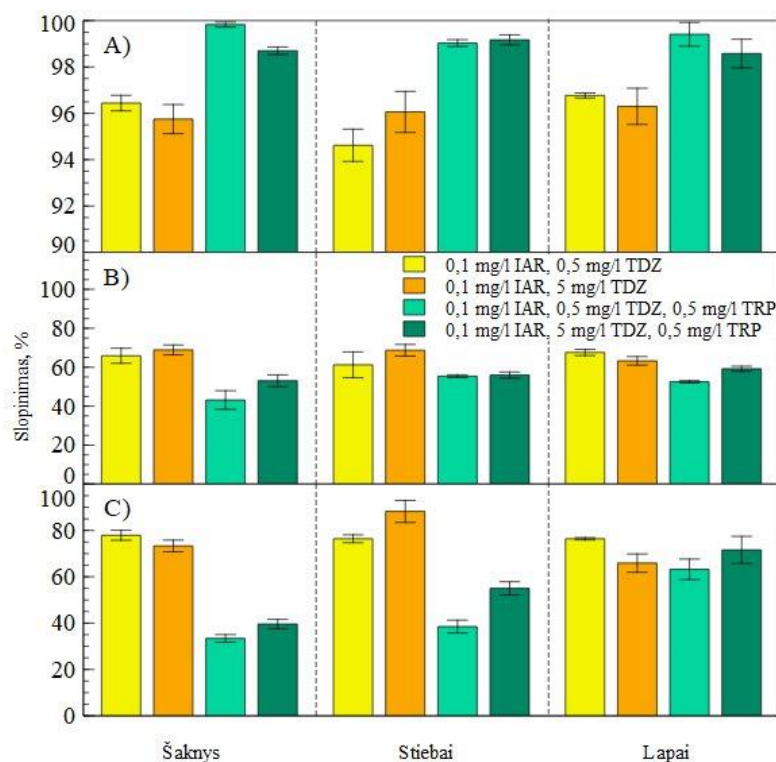
Iš 3.3 pav. pateiktų duomenų galima matyti, jog didesnė tidiazurono koncentracija t. y. 5 mg/l lėmė didesnę sukaupytų fenolinių junginių koncentraciją, kuri šaknų kaliaus kultūrose siekė apie 36,21 mg/l, stiebų – 66,45 mg/l, o lapų 32,13 mg/l, kai auginimo terpėje nėra *L*-triptofano ir 82,06 mg/l, kai į terpę buvo pridėta šios aminorūgšties. Fenolinių rūgščių atveju, daugelyje mėginių, didesnė tidiazurono koncentracija taip pat lėmė didesnę ir fenolinių rūgščių koncentraciją, o *L*-triptofanas buvęs mitybinėje terpėje šaknų ir stiebų kaliaus kultūros ekstraktuose nepaskatino didesnės fenolinių rūgščių koncentracijos sukaupimo, tačiau lapų – galima matyti reikšmingą padidėjimą: nuo 9,64 mg/l iki 13,44 mg/l, kai terpėje buvo 0,5 mg/l tidiazurono ir nuo 7,76 mg/l iki 14,55 mg/l, kai tidiazurono koncentracija buvo 5 mg/l.



3.4 pav. Biologiškai aktyviųjų junginių koncentracija įvairių augalų dalių kaliaus kultūrų ekstraktuose: A – flavonoidų, B – antocianinų

Atsižvelgiant į flavonoidų ir biologinių pigmentų – antocianinų koncentracijas, kaliaus kultūrų mėginiuose galima pastebėti panašias tendencijas kaip ir fenolinių junginių pasiskirstyme. Augalų ląstelės užaugusios mitybinėje terpėje su didesne – 5 mg/l tidiazurono koncentracija, sukaupė didesnę flavonoidų ir antocianinų koncentraciją, nei tos, kurios susiformavo terpėje su 0,5 mg/l tidiazurono. Aminorūgštis – *L*-triptofanas, šaknų ir stiebų kaliaus kultūros ekstraktuose nepaskatino didesnės flavonoidų koncentracijos sukaupimo, tačiau lapų – galima matyti padidėjimą: nuo 4,84 mg/l iki 11,59 mg/l, kai mitybinėje terpėje yra 0,5 mg/l tidiazurono ir nuo 8,66 mg/l iki 11,96 mg/l, kai tidiazurono koncentracija padidėja iki 5 mg/l. Antocianinų atveju, triptofanas turėjo teigiamą įtaką stiebų ir lapų kaliaus kultūros ekstraktuose, ypač tuose, kurių augimui buvo naudojama 5 mg/l tidiazurono koncentracija (žr. 3.4 pav.).

Viena pagrindinių fitocheminių savybių augaluose, kuria pasižymi flavonoidai ir fenoliniai junginiai yra antioksidacinis aktyvumas. Buvo pasirinkta tai išmatuoti trimis skirtingais metodais, nustatyti kaip raudonojo baziliko augalo dalių kaliaus kultūros vandeniniai ekstraktai geba slopinti DPPH ir ABTS radikalus, bei redukuoti kalio fericianidą $K_3[Fe(CN)_6]$ į kalio ferocianidą $K_4[Fe(CN)_6]$ (žr. 3.5 pav.).



3.5 pav. Įvairių augalų dalių kaliaus kultūrų antioksidacinės savybės nustatytos keliais metodais; A – ABTS, B – DPPH, C – redukcinis metodas

Raudonojo baziliko ekstraktai pagaminti iš kaliaus kultūrų užaugintų mitybinėse terpėse su 5 mg/l tidiazurono koncentracija lėmė didesnes antioksidacines savybes, nei ekstraktai pagaminti iš ląstelių, užaugintų su mažesne (0,5 mg/l) tidiazurono koncentracija.

Ekperimento metu naudojant ABTS metodą, buvo nustatyta, jog visų augalo dalių kaliaus kultūros, augintos terpėje su *L*-triptofanu turėjo stipresnes antioksidacines savybes. DPPH ir redukciniu metodu gauti rezultatai parodė, jog be aminorūgšties augintos šaknų ir stiebų kaliaus kultūros pasižymėjo geresnėmis antioksidacinėmis savybėmis, o lapų kaliaus kultūros ekstraktai, taip pat rodė minimalų pranašumą prieš ląsteles, augusias su *L*-triptofano priedu.

Gauti rezultatai parodė, jog augimo reguliatoriaus tidiazurono didesnė koncentracija (5 mg/L) mitybinėse terpėse lėmė geresnes lot. *Ocimum basilicum* var. *Purpurascens* kaliaus kultūros antioksidacines savybes bei sukauptą didesnę koncentraciją biologiškai aktyviųjų junginių.

L-triptofanas mitybinėse terpėse turėjo teigiamą įtaką lapų kaliaus kultūroms. Nustatyta, jog jų vandeniniuose ekstraktuose sukaupta didesnė koncentracija antrinių metabolitų, nei ekstraktuose pagamintuose iš raudonojo baziliko lapų kaliaus kultūros, užaugusios be triptofano priedo.

Remiantis gautais duomenimis, buvo nuspręsta išrinkti geriausiomis savybėmis pasižyminčius ekstraktus iš kiekvienos morfologinės raudonojo baziliko augalo dalies kaliaus kultūros – 2, 6 ir 12 – bei pagaminti jungtinį ekstraktą kosmetikos produktų gamybai. JAV mokslininkai paskaičiavo, kad sausą raudonojo baziliko augalą sudaro 18 % šaknys, 37 % stiebai ir 45 % lapai [63]. Atsiželgiant į šiuos skaičiavimus buvo pasirinktas atitinkamas kiekis kiekvienos dalies kaliaus kultūros ir pagamintas 0,056 g/ml koncentracijos vandeninis ekstraktas, pagal 2.2.2 Ekstraktų paruošimo procedūrą, kuris bus įtrauktas į kosmetikos produkto formuliaciją.

3.3. Tarpinių produktų gavimas ir savybių tyrimas

Siekiant pagaminti kosmetikos priemones su biotechnologiniais procesais išgautais biologiškai aktyviaisiais junginiais iš raudonojo baziliko kaliaus kultūrų, kurios apsaugo nuo saulės spindulių žalos, buvo sukurtos tarpinių produktų kompozicijos (žr. 3.2 lentelę).

Visose kompozicijose naudojamas konservantas sudarytas iš fenoksietanolio ir etilheksilglicerino. Taip pat naudojamas polivinilpirolidonas (PVP), kuris sudaro ploną ir lanksčią plėvelę plauko paviršiuje, o glicerolis padeda drėkinti plaukus ir kartu su PVP apsaugo nuo drėgmės praradimo.

3.2 lentelė. Kompozicijos tarpiniams produktams gauti

Medžiagos pavadinimas	Tarpiniai produktai		
	I	II	III
	Masės dalis, %		
Glicerolis	2	2	2
Ksantanas	0,2	0,2	0,2
Polivinilpirolidonas (PVP)	1,5	1,5	1,5
Citrinų rūgštis	p.p	-	p.p
Trietanolaminas (TEA)	-	p.p	-
Fenoksietanolio ir etilheksilglicerino mišinys	1	1	1
Hidrofilinis UV filtras (<i>Parsol[®] HS</i>)	-	8	-
Lipofilinis UV filtras (<i>Parsol[®] Shield</i>)	-	-	10
Putonių sėklų aliejus	-	-	10
Kapriolo / kaprio trigliceridas	-	-	5
Polisorbatas 80	-	-	4
Cetearilo alkoholis	-	-	2
Cetilo alkoholis	-	-	1
Vitaminas E	-	-	0,5
EDTA	-	-	0,1
Vanduo	Iki 100	Iki 100	Iki 100

Pirminės gelinės kompozicijos sudėtyje (I) nėra jokių papildomų nuo UV spindulių apsaugančių medžiagų. Pasirenkami tik pagrindiniai ingredientai, būtini sukurti geliui, tinkamam naudoti plaukams.

Kompozicija II yra sukurta įterpiant vandenyje tirpų cheminį UV filtrą (*Parsol[®] HS*), todėl modifikacijos yra pasirenkamos atsižvelgiant į šio cheminio filtro savybes, kurio viena iš svarbiausių yra tai, jog ši medžiaga tirpsta pH intervale 5 – 6, todėl jam pasiekti yra naudojamas trietanolaminas.

Tarpinis produktas III skiriasi nuo I ir II kompozicijų savo tekstūra, kadangi tai yra aliejus vandenyje (A/V) emulsija, o ne gelis. UV filtrą *Parsol[®] Shield* pasirenkama tirpinti putonių sėklų aliejaus ir kapriolo/kaprio triglicerido mišinyje, dėl šių medžiagų sugebėjimo išlikti stabiliomis aukštos temperatūrose. Taip pat naudojamas emulsiklių mišinys sudarytas iš polisorbato 80, cetearilo alkoholio ir cetilo alkoholio, siekiant reguliuoti gaminio stabilumą ir tekstūrą.

Pagal sukurtas kompozicijas, kurios yra pateiktos 3.2 lentelėje, pagaminti kosmetikos produktai bei įvertintas jų stabilumas ir klampa.

Stabilumas vertinamas dviem metodais: emulsijų stabilumui tirti ir gelinės tekstūros kompozicijoms įvertinti.

Dideli klamos svyravimai tarp produktų: kompozicija I – $461,9 \pm 0,56$ Pa·s, kompozicija II – $70,5 \pm 0,3$ Pa·s ir kompozicija III – $2151,7 \pm 2,31$ Pa·s, nepadarė įtakos produktų stabilumui ir buvo nustatyta, jog visi gauti produktai yra stabilūs.

Iš gautų duomenų daroma išvada, jog pradinių produktų kompozicijos buvo tinkamos tęsti tyrimus, į produktų sudėtį įtraukiant vandeninius raudonojo baziliko ekstraktus su biologiškai aktyviaisiais junginiais.

3.4. Galutinių produktų gavimas ir savybių tyrimas

Buvo nuspręsta pagaminti 3 galutinius produktus (žr. 3.3 lentelėje). Kompozicija I-B atitinka tarpinio produkto formuliaciją I, įterpiant vandeninį raudonojo baziliko ekstraktą. II-B yra sudaryta naudojant kompoziciją II ir vandeninį raudonojo baziliko ekstraktą, o III-B formuliacija – III kompozicija derinama kartu su vandeniniu baziliko ekstraktu.

*Institute of Personal Care Science*⁷ teigimu, sausų augalinių ekstraktų galima įterpti nuo 1 iki 5 %.

3.3 lentelė. Kompozicijos galutiniams produktams gauti

Medžiagos pavadinimas	Galutiniai produktai		
	I-B	II-B	III-B
	Masės dalis, %		
Glicerolis	2	2	2
Ksantanas	0,2	0,2	0,2
Poli(vinilpirolidonas) (PVP)	1,5	1,5	1,5
Citrinų rūgštis	p.p	-	p.p
Trietanolaminas (TEA)	-	p.p	-
Fenoksietanolio ir etilheksilglicerino mišinys	1	1	1
Hidrofilinis UV filtras (<i>Parso[®]l HS</i>)	-	8	-
Lipofilinis UV filtras (<i>Parsol[®] Shield</i>)	-	-	10
Putonių sėklų aliejus	-	-	10
Kaprilo/kaprio trigliceridas	-	-	5
Polisorbatas 80	-	-	4
Cetearilo alkoholis	-	-	2
Cetilo alkoholis	-	-	1
Vitaminas E	-	-	0,5
EDTA	-	-	0,1
Raudonojo baziliko ekstraktas	5	5	3,43
Vanduo	Iki 100	Iki 100	Iki 100

⁷ <https://personalcarescience.com.au/>

Produktų stabilumas buvo vertinamas dviem metodais. Nustatytas dalinis išsisluoksniavimas, kuris buvo vertinamas bei apskaičiuojamas išsisluoksniavimo indeksas I, %. (žr. 3.4 lentelėje).

Svarbu paminėti, kad stebint gelinės tekstūros produktus, jų stabilumą reikia vertinti pagal mechaninio streso testą [60], šio tyrimo atveju t.y. I-B ir II-B produktų formuliacijos. Galutinį emulsijos III-B stabilumą vertinti reikia pagal standartinių kritinių sąlygų testą⁸. Buvo nustatyta, kad nei vienas iš galutinių produktų nebuvo visiškai stabilus, todėl nuspręsta patikrinti rinkoje esančius gelius bei kremus, kurių paskirtis yra apsaugoti nuo saulės spindulių poveikio ir tokiu būdu palyginti su tyrimo metu gautais prototipais (žr. 3.6 pav.).



3.6 pav. Produktų prototipai

Gauti rezultatai parodė, jog tik 50 % tiriamų komercinių produktų buvo visiškai stabilūs. Kiti rinkos tiekėjai naudojo ant pakuočių išpėjančius užrašus, jog prieš naudojimą suplakti bei pakuočių viduje buvo įdėti kamuoliukai, kurie pagreitina ir palengvina mechaninį homogenizavimo procesą vartotojui (žr. 3.4 lentelėje).

3.4 lentelė. Stabilumo vertinimo duomenys

Nr.	Galutiniai produktai	Stabilumo vertinimo metodas		Komentaras
		Standartinės kritinės sąlygos	Mechaninio streso testas	
		Išsisluoksniavimo indeksas, I, %		
1.	I-B	5	5	Išsisluoksniavimas
2.	II-B	30	20	Išsisluoksniavimas
3.	III-B	1	10	Išsisluoksniavimas
Rinkoje esantys produktai				
4.	La roche-posay apsauginis fluidas veidui Anthelios UVMUNE 400, SPF 50+	60	60	Išsisluoksniavimas, pakuotėje yra kamuoliukas
5.	La Roche-Posay Anthelios Clear Skin Dry Touch SPF 60 apsauginis veido kremas	0	0	Homogeniškas
6.	La Roche-Posay Anthelios UVMUNE 400 Hydrating Cream SPF50+ apsauginis veido kremas	0	0	Homogeniškas

⁸ <https://oxfordbiosciences.com/stability-testing>

3.4 lentelė. Tęsinys

Nr.	Rinkoje esantys produktai	Stabilumo vertinimo metodas		Komentaras
		Standartinės kritinės sąlygos	Mechaninio streso testas	
		Išsisluoksniavimo indeksas, I, %		
7.	<i>La Roche-Posay Anthelios Cooling Water</i> apsauginis losjonas, SPF 60	0	0	Homogeniškas
8.	<i>ZitSticka MEGASHADE</i> apsauginis veido serumas, SPF 50	2	2	Susidaro nuosėdos
9.	<i>Mentholatum SUNPLAY SOLAREX-3</i> vėsinamasis kremas nuo saulės, SPF50+	40	40	Išsisluoksniavimas, pakuotėje yra kamuoliukas
10.	<i>e.l.f skin Suntouchable</i> , SPF 45	60	60	Išsisluoksniavimas, pakuotėje yra kamuoliukas
11.	<i>CeraVe AM</i> drėkinamasis veido losjonas su SPF 50 apsauga nuo saulės normaliai ir riebiai odai	0	0	Homogeniškas

Remiantis šio stabilumo tyrimo rezultatais, nustatyta, kad dalinis išsisluoksniavimas yra priimtinas kosmetikos produktams, skirtiems apsaugai nuo saulės, todėl nuspręsta tęsti tolesnius bandymus.

Nustatyta, jog galutinių produktų klampa buvo $41,1 \pm 0,1$ Pa·s, kompozicijoje naudojant raudonojo baziliko kaliaus kultūrų ekstraktą (I-B), t.y. net apytiksliai 90 % sumažėjusi klampa, palyginti su kontroliniu tarpiniu I produktu. Pagrindinis formuliacijoje naudojamas tirštiklis yra ksantanas, todėl yra manoma, kad klampai didelę įtaką turėjo didelis fenolinių junginių (rozmarino rūgšties, kavos rūgšties ir flavonoidų) kiekis, kuris gali suardyti ksantano vandenilius ryšius su vandens molekulėmis bei konkuruoti su vandens molekulėmis ir taip suardyti gelio struktūrą [64].

Kompozicijoje II-B naudojant vandenyje tirpų cheminį UV filtrą *Parsol*[®] HS ir raudonojo baziliko kaliaus kultūros ekstraktą, taip pat yra matomas klamos sumažėjimas, lyginant su II formuliacija, kuris siekė 36 % ir yra $44,6 \pm 0,1$ Pa·s.

III-B emulsija pasižymėjo labai panašia klampa su III tarpiniu produktu t. y. $2142,0 \pm 2,7$ Pa·s, kas yra mažiau nei 1 % sumažėjimas.

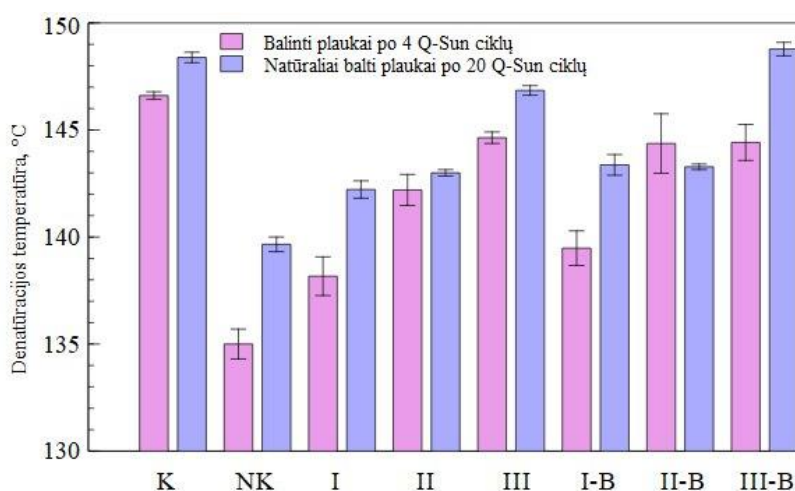
3.5. Plaukų apsauga nuo UV spinduliuotės

Natūraliai plaukuose esantys pigmentai melaninai yra žinomi kaip antioksidantai, laisvųjų radikalų gaudytojai ir fotoapsauginės medžiagos. Žmogaus plaukuose gali būti tiek eumelaninas, tiek feomelaninas, arba bent vienas iš jų. Fotoapsauginės melanino savybės priklauso nuo jo kiekio ir rūšies plaukuose. Paprastai melaninas kaupiasi žievėje, kurią nuo išorės apsaugo žvyneliai, todėl UVB spinduliai, kurių įsiskverbimo gylis yra apie 5 μm, negali jos pasiekti. Vienas eumelaninas yra gana atsparus ir menkai suyra veikiamas UV ar regimosios šviesos, tačiau kartu su feomelaninu abu tipai tampa jautrūs UVA spinduliuotei ir regimajai šviesai [65].

Balinimas yra cheminis procesas, naudojamas plaukams šviesinti oksiduojant žievėje esančius melanino pigmentus. Šio proceso metu nutrūksta ir yra oksiduojami disulfidiniai ryšiai plauko struktūroje, o žvyneliai tampa porėtesni. Dėl to sumažėja plauko stiprumas, jis gali tapti trapesnis, o melanino fotoapsauginė funkcija prarandama, todėl balinti plaukai yra labiau jautrūs UV spindulių

poveikiui [1]. Dėl šios priežasties pirminiams tyrimams buvo pasirinkti du kartus šarminiu 9 % vandenilio peroksidu balinti plaukai.

Balintų plaukų mėginiai buvo laikomi 4 val *Q-Sun 3100* meteorometre. Iš 3.7 pav. pateiktų rezultatų galima matyti, jog visi naudoti produktai, palyginus su neigiama kontrole, kurios denatūracijos temperatūra yra $135,0 \pm 0,7$ °C, parodė gebėjimą statistiškai reikšmingai apsaugoti plaukų baltymus nuo UV žalos. Bazinė kompozicija (I) pakėlė denatūracijos temperatūrą iki $138,2 \pm 0,9$ °C, o su raudonojo baziliko ekstrakto priedu (I-B) iki $139,5 \pm 0,8$ °C. Kompozicija su UVB spindulius absorbuojančiu, hidrofiliniu UV filtru (II) parodė dar geresnius rezultatus – $142,0 \pm 0,7$ °C ir $144,4 \pm 1,4$ °C į formuliaciją įterpus baziliko kaliaus kultūros ekstraktą. Geriausia apsauga pasižymėjo III ir III-B kompozicijos, kurios baltymų denatūracijos temperatūras atitinkamai pakėlė iki $144,6 \pm 0,3$ °C ir $144,4 \pm 0,8$ °C. Visi naudoti produktų prototipai parodė statistiškai reikšmingą pranašumą prieš neigiamos kontrolės mėginį (žr. 3.5 lentelę).



3.7 pav. Denatūracijos temperatūros pokyčiai balintų ir natūraliai baltų plaukų mėginiuose: K – kontrolė; NK – neigiama kontrolė; I – bazinė kompozicija; II – kompozicija su hidrofiliniu UV filtru; III – kompozicija su lipofiliniu UV filtru; I-B – kompozicija su raudonojo baziliko ekstraktu; II-B – kompozicija su hidrofiliniu UV filtru ir raudonojo baziliko ekstraktu; III-B – kompozicija su lipofiliniu UV filtru ir raudonojo baziliko ekstraktu

Gauti hipotezę patvirtinantys rezultatai, todėl galutiniam eksperimentui buvo pasirenkama naudoti, melanino neturinčius, natūraliai baltus plaukus. Pakartotinis bandymas buvo reikalingas todėl, kad viso tyrimo tikslas buvo ištirti ne tik baltymų pokyčius, bet ir lipidų, o kaip yra žinoma plaukų balinimas sumažina laisvųjų lipidų ir hifrofobinio lipidų monosluoksniu kiekį [66]. Natūraliai balti plaukai neturi pradinės pažaidos, kaip prieš tai naudoti balinti plaukai, todėl jų struktūrą pažeisti yra sudėtingiau. Šie mėginiai dirbtine šviesa buvo veikiami 20 valandų, taip pat kas 1 valandą perplaunant šampūnu ir padengiant produktu iš naujo.

Analizuojant natūraliai baltų plaukų denatūracijos temperatūras yra pastebimas toks pats dėsningumas, kaip ir balintų plaukų mėginiuose. Visi naudoti produktai parodė statistiškai reikšmingą pranašumą prieš neigiamos kontrolės mėginį ($139,7 \pm 0,3$ °C) (žr. 3.6 lentelę). Bazinė kompozicija (I) – $142,2 \pm 0,4$ °C, o su raudonojo baziliko priedu $143,0 \pm 0,2$ °C. Nors II kompozicija dengiami plaukų mėginiai pasižymėjo aukštesne denatūracijos temperatūra ($143,0 \pm 0,1$ °C) nei bazinė kompozicija (I) apsaugoti plaukai tačiau į II formuliaciją, įterpus raudonąjį baziliką (II-B) rezultatas nežymiai nusiledo I-B formuliacijai – $143,4 \pm 0,5$ °C (statistiškai nereikšminga). Kompozicija su

plataus spektro lipofiliniu UV filtru (III ir III-B) parodė geriausias apsaugines savybes, atitinkamai – $146,9 \pm 0,2$ °C ir $148,8 \pm 0,3$ °C (žr. 3.7 pav.), bet tik III-B formuliacija statistiškai nesiskiria nuo teigiamos kontrolės.

Denatūracijos temperatūra plaukų mokslo bendruomenėje interpretuojama kaip matricos baltymų jungčių tankio rodiklis [67]. Didesnis baltymų jungčių tankis leidžia keratinams atlaikyti aukštesnes temperatūras (pvz., tiesinant arba garbanojant). III-B formuliacija pilnavertiškai apsaugojo plaukų jungčių tankį nuo UV spinduliuotės (žr. 3.6 lentelę).

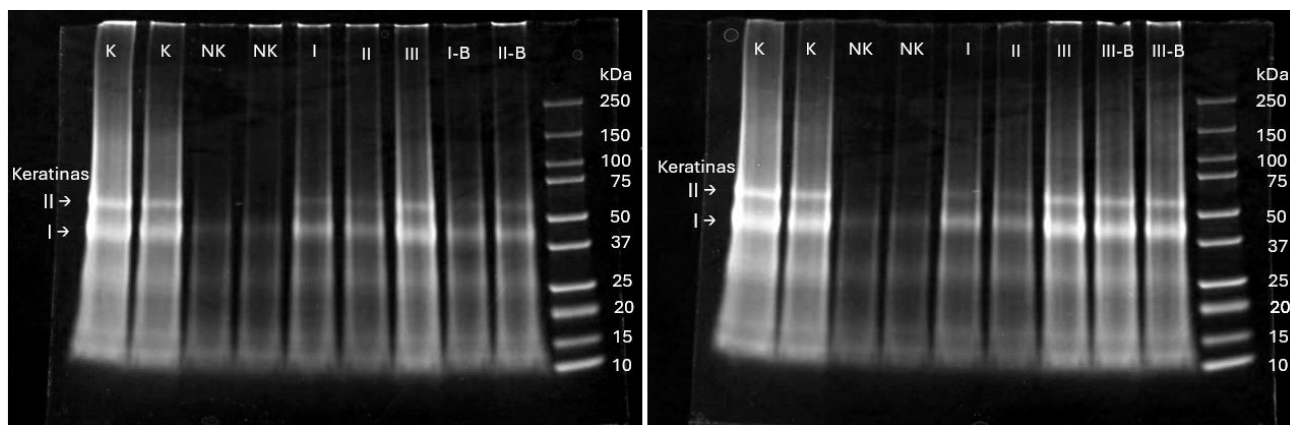
3.5 lentelė. Statistiniai balintų plaukų denatūracijos temperatūros duomenys. Skirtingos raidės žymi statistinius skirtumus tarp grupių

Grupė	Pakartojimai	Vidurkis	St. nuokrypis	St. vidurkio paklaida	Statistinis reikšmingumas				
K	6	146,6	0,2	0,1	A				
III	6	144,6	0,3	0,1		B			
III-B	6	144,4	0,8	0,3		B			
II-B	6	144,4	1,4	0,6		B			
II	6	142,2	0,7	0,3			C		
I-B	6	139,5	0,8	0,3				D	
I	6	138,2	0,9	0,4				D	
NK	6	135,0	0,7	0,3					E

3.6 lentelė. Statistiniai natūraliai baltų plaukų denatūracijos temperatūros duomenys. Skirtingos raidės žymi statistinius skirtumus tarp grupių

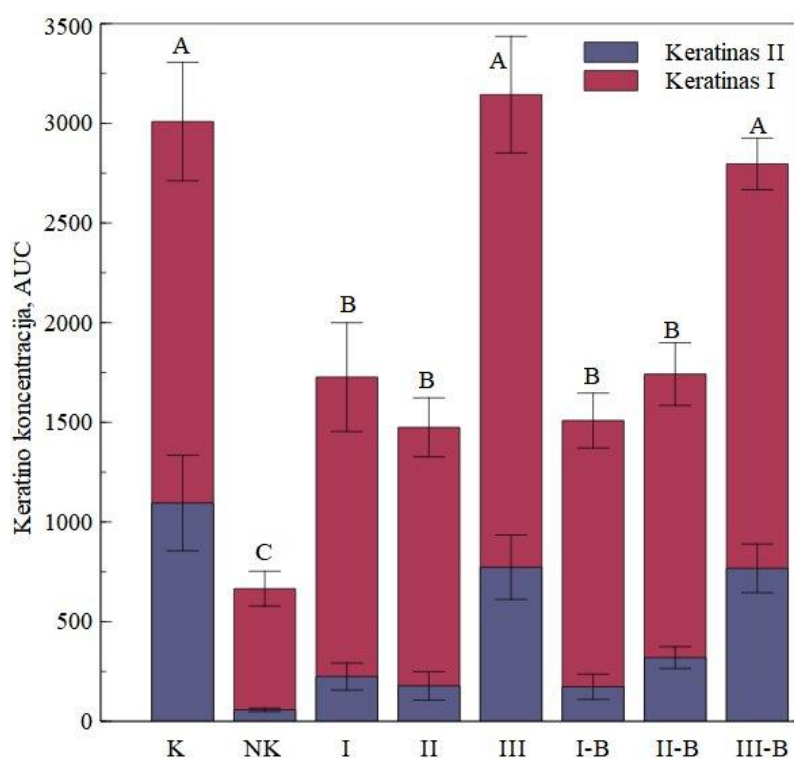
Grupė	Pakartojimai	Vidurkis	St. nuokrypis	St. vidurkio paklaida	Statistinis reikšmingumas				
III-B	6	148,8	0,3	0,1	A				
K	6	148,4	0,2	0,1	A				
III	6	146,9	0,2	0,1		B			
I-B	6	143,4	0,5	0,2			C		
II-B	6	143,3	0,1	0,1			C		
II	6	143,0	0,2	0,1			C		
I	6	142,2	0,4	0,2				D	
NK	6	139,7	0,3	0,1					E

Žmogaus plaukų pluošto filamentiniai polipeptidai skirstomi į I tipo keratiną ir II tipo keratiną. Šie tipai išsiskiria savo aminorūgščių sudėtimi – I tipo baltymai yra rūgštiniai, o II tipo baltymai gali būti nuo neutralių iki bazinių [4]. Baltymų atskyrimas buvo vykdomas natrio dodecilsulfato – poliakrilamido gelio elektroforezės metodu (SDS – PAGE). Šio eksperimento metu baltymai yra išskirstomi pagal molekulinę masę nuo didžiausios iki mažiausios, todėl galima atskirti I tipo, mažesnės molekulinės masės keratiną (46–55 kDa), ir II tipo, didesnės molekulinės masės, keratiną (54–57 kDa) [68] (žr. 3.8 pav.).



3.8 pav. SDS – PAGE metodu gautos baltymų juostos ir jose matomi I ir II tipo keratinai

Matlab GUI GelAnalysis programos pagalba kiekybiškai analizuojamų gelyje matomų baltymų juostų rezultatai pateiktame 3.9 pav.



3.9 pav. Baltymo keratino koncentracija natūraliai baltų plaukų mėginiuose (AUC - plotas po kreive)

Grafike matomi duomenys parodo, jog plaukų mėginiuose pavyko išekstrahuoti keliskart daugiau mažesnės molekulinės masės keratinų (I), nei didesnės molekulinės masės keratinų (II). Nors literatūros šaltiniai praneša, kad keratino tarpiniai filamentai yra heteropolimerai, sudaryti iš I ir II tipo baltymų, maždaug vienodais moliniais kiekiais 1:1 [69], tačiau izopeptidinės ir kitos skersinės jungtys neleidžia pilnavertiškai išekstrahuoti didesnių keratino II baltymų. Natūraliai balti plaukai savo struktūroje turi $3008,9 \pm 536,5$ AUC baltymų. Todėl labai akivaizdžiai galima pastebėti, kad būtent III ir III-B produktu padengti plaukų mėginiai išsaugojo didžiausią kiekį keratino, atitinkamai $3143,9 \pm 453,9$ AUC ir $2796,0 \pm 251,4$ AUC (statistiškai nesiskiria nuo kontrolės). Lyginant formuliacijas II ir II-B, yra matoma, jog raudonojo baziliko įterpimas į formuliaciją, padėjo išsaugoti didesnį kiekį keratino, nuo $1474,73 \pm 219,4$ AUC iki $17412,0 \pm 211,9$ AUC. Deja, raudonojo baziliko

kaliaus kultūros ekstraktas nepagerino bazinės kompozicijos gauto rezultato – $1726,8 \pm 340,7$ AUC, nes mėginiai padengti kompozicija I-B išsaugojo $1509,1 \pm 201,1$ AUC keratino. Visi tirti mėginiai turi statistiškai didesnę keratinų koncentraciją nei neigiama kontrolė (žr. 3.7 lentelę)

3.7 lentelė. Statistiniai baltymo keratino duomenys. Skirtingos raidės žymi statistinius skirtumus tarp grupių

Grupė	Pakartojimai	Vidurkis	St. nuokrypis	St. vidurkio paklaida	Statistinis reikšmingumas		
III	5	3143,9	405,4	181,3	A		
K	5	3008,9	518,2	231,7	A		
III-B	5	2796,5	233,9	104,6	A		
II-B	5	1742,0	141,1	63,1		B	
I	5	1726,8	308,1	137,8		B	
I-B	5	1509,1	110,7	49,5		B	
II	5	1474,7	201,3	90,0		B	
NK	5	665,5	83,9	37,5			C

Mokslininkai Ispanijoje tyrinėjo *Cynarascolumus* L. ekstraktą, gautą iš artišokų lapų ir *Oryzasativa* L. ekstraktą, gautą iš ryžių grūdų bei vertino kaip jie mažina baltymų skaidymą ir lipidų peroksidaciją. Buvo gauti rezultatai, jog artišoko ekstraktas, kuriame yra stiprių antioksidantų, kaip flavonoidai, suteikė efektyvesnę apsaugą plaukų struktūrai [70].

Žmogaus sebumo sudėtyje yra aptinkamos 6 klasės neutralių lipidų: cholesterolis, cholesterolio esteriai, vašku esteriai, trigliceridai, laisvosios riebalų rūgštys ir skvalenas. Trigliceridai ir riebalų rūgštys kartu sudaro didžiąją dalį sebumo kompozicijos (57,5 %), po jų seka vaško esteriai (26 %) ir skvalenas (12 %). Cholesterolio ir jo esterių yra mažiausiai, jie sudaro likusius 4,5 % viso lipidų kiekio [71]. Svarbu paminėti, kad sebumo sudėtis gali keistis, priklausomai nuo amžiaus, hormonų bei vartojamų vaistų [72]. Plaukų paviršiuje taip pat galima rasti visas šias lipidų klases. Gilesniuose plauko sluoksniuose dominuoja mažesnės molekulinės masės lipidai: laivosios riebalų rūgštys ir cholesteroliai. Lipidų pokyčiai plaukų mėginiuose pateikiami 3.10 pav.

Pateiktame grafike, analizuojant atskirai visas lipidų grupes galima pastebėti, jog geriausią rezultatą apsaugant cholesterolius – $111,82 \pm 5,7$ ng/mg parodė plaukų mėginiai dengti III formuliacija, palyginus su $252,73 \pm 3,6$ ng/mg cholesterolio kiekiu natūraliai baltų plaukų mėginyje. Nepaisant II-B kompozicijos, visi likę produktai apsaugojo dalį natūraliai plaukuose esančio cholesterolio. O cholesterolio esterius efektyviausiai apsaugojo – III-B kompozicija, kuri išsaugojo $102,45 \pm 1,5$ ng/mg šių lipidų, palyginus su $252,73 \pm 3,6$ ng/mg kontroliniame mėginyje. Statistiniai duomenys parodė, jog cholesterolio esteriai visuose plaukų mėginiuose buvo didesni nei neigiamoje kontrolėje.

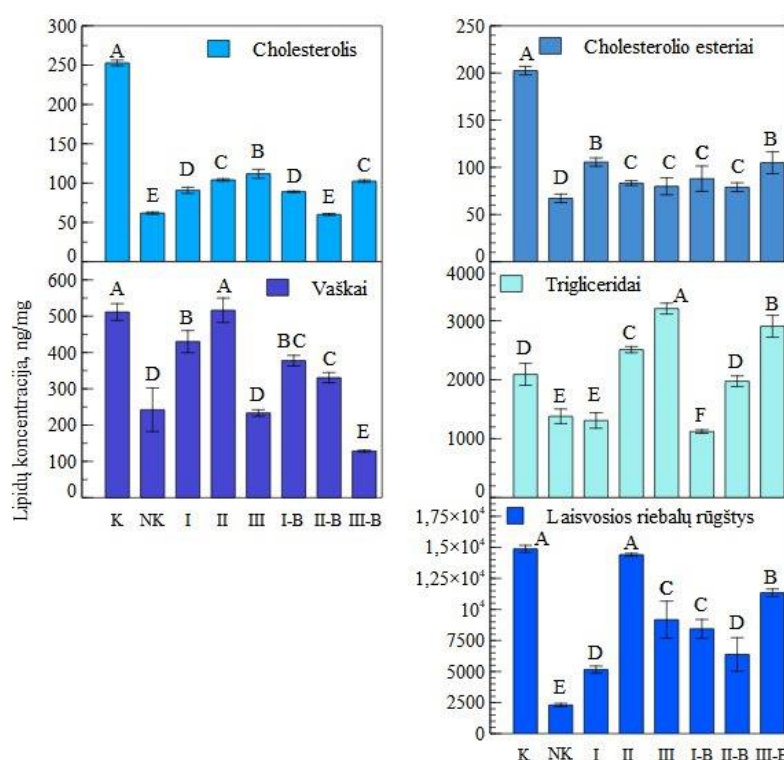
Vertinant produktų prototipų gebėjimą apsaugoti plaukuose esančius vaškus, matoma, jog kompozicija II, kurios sudėtyje yra UVB spindulius absorbuojantis UV filtras, apsaugojo šiuos lipodus lyginant ir absoliučiasias ir statistines reikšmes. Iš natūraliuose plaukuose esančių $511,43 \pm 23,0$ ng/mg efektyviai išsaugojo – $516,29 \pm 33,5$ ng/mg. I, I-B ir II-B pasižymėjo daline apsauga, tačiau III ir III-B kompozicijos neparodė geresnio efektyvumo nei neigiama kontrolė.

Trigliceridai – tai glicerolio ir trijų riebalų rūgščių esteriai, kurie sudaro pagrindinę natūralių riebalų ir aliejų dalį – tiek gyvūninės, tiek augalinės kilmės. Nagrinėjant trigliceridus pateiktame 3.10 pav.,

svarbu paminėti, kad III ir III-B kompozicijose naudojamas lipofilinis UV filtras buvo ištirpintas putonių sėklų aliejuje, todėl gauti aukšti trigliceridų kiekiai galimai buvo įnešti iš išorės. Todėl vertinant statistškai reikšmingus duomenis, galima teigti, jog II-B kompozicija parodė geriausią rezultatą apsaugant natūralius plaukuose esančius trigliceridus. Iš pradžioje buvusių $2090,65 \pm 185,7$ ng/mg po veikimo dirbtine šviesa meteorometre liko $1974,1 \pm 89,7$ ng/mg. II formuliacija taip pat parodė aukštą rezultatą – $2509,7 \pm 52,7$ ng/mg, tačiau jis buvo didesnis nei kontrolė, kas priverčia manyti, kad eksperimento metu įvyko atsitiktinė tarša.

Analizuojant laisvąsias riebalų rūgštis, galima pastebėti, jog visos kompozicijos apsaugojo didesnę šių lipidų kiekį nei jo randama neigiamos kontrolės mėginyje. O statistikai reikšmingą rezultatą parodė II kompozicija, kuri išsaugojo $14405,86 \pm 114,6$ ng/mg iš natūraliai baltų plaukų mėginyje esančių $14875,64 \pm 285,6$ ng/mg.

Skvalenas eksperimento metu, buvo žemiau aptinkamos ribos.

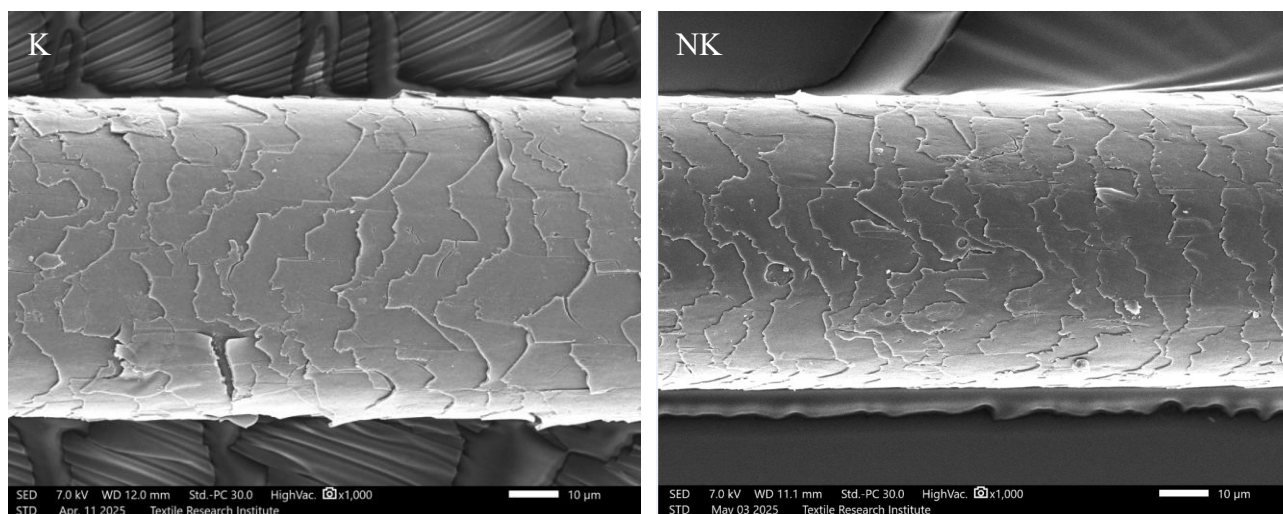


3.10 pav. Lipidų koncentracija ir statistinis reikšmingumas natūraliai baltų plaukų mėginiuose. Skirtingos raidės žymi statistinius skirtumus tarp grupių

Didesnis formuliacijos II efektyvumas, palyginti su formuliacija III, saugant lipidus gali būti paaiškinamas geresne *Parsol*[®] HS UVB spindulių absorbcija. UVB spinduliai geba dvigubai efektyviau skaidyti laisvąsias riebalų rūgštis ir kitus lipidų komponentus [12], todėl efektyvesnė šių spindulių sugertis reikšmingai prisideda prie plaukų lipidų apsaugos. Nors abu filtrai sugeria UVB diapazone esančius spindulius, tačiau *Parsol*[®] HS pasižymi didesne maksimalia absorbcija ties 306 nm, o tai rodo stipresnę UVB absorbciją. Kai tuo tarpu *Parsol*[®] Shield, turintis dvigubą absorbciją ties 310 nm ir 343 nm, siūlo platesnę apsaugą nuo UV spindulių, tačiau UVB diapazone intensyvumas yra šiek tiek mažesnis, nei *Parsol*[®] HS.

Hidrofilinių bioaktyviųjų junginių (fenolinių junginių, flavonoidų, antocianinų ir fenolinių rūgščių) efektyvumo trūkumas, apsaugant plaukų lipidus, gali būti paašškintas prasta antrinių metabolitų ir plaukų lipidų sąveika, kas galėjo sutrikdyti jų skverbimuisi į plaukų ląstelių membranos kompleksą sudarytą iš lipidų. Ateityje formuliacijos galėtų būti pagerintos įterpian lipofilinius antioksidantus – tokoferolius, karotenoidus ir eterinius aliejus, ekstrahuotus superkritiniu CO₂.

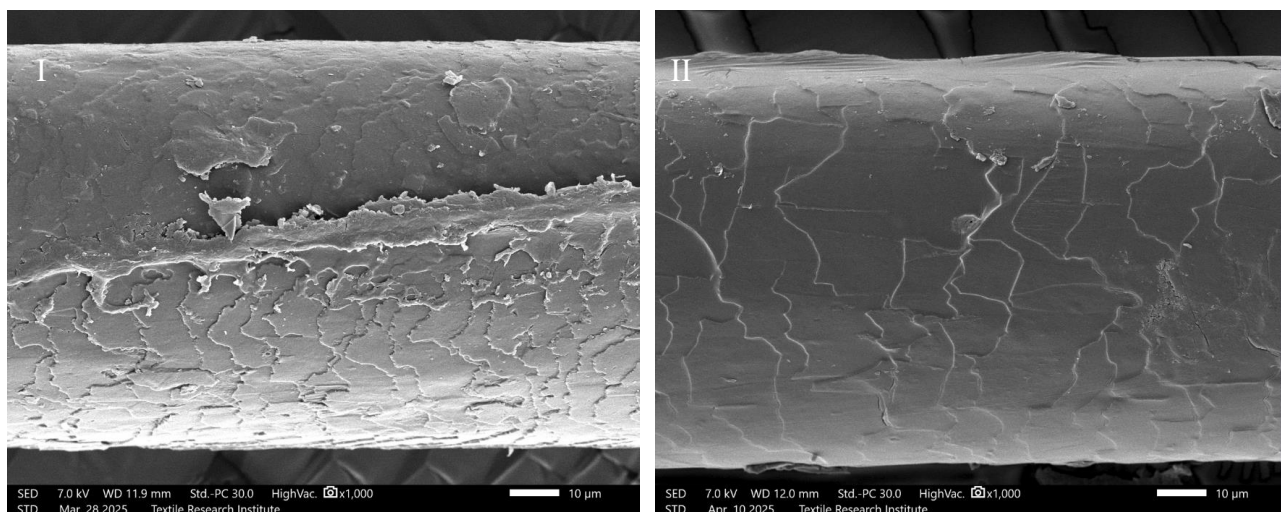
Japonijoje buvo atliktas tyrimas, kurio metu drėgni plaukai 20 min buvo veikiami ksenono šviesos šaltinio generuojama UV spinduliuote. Ši spinduliuotė buvo 25 kartais stipresnė nei natūrali saulės šviesa. Skenuojančios elektroninės mikroskopijos metodu nustatyta, kad palyginus su kontroliniu mėginiu, UV spinduliais veikiamuose plaukuose buvo matomi žvynelių pažeidimai, jų kraštų atsilupimai ir daugybė paviršiaus skylių [8]. Tačiau šio eksperimento metu fizinių pasikeitimų žvyneliuose nebuvo nustatyta (žr. 3.11 pav.)



3.11 pav. K – natūraliai baltų plaukų paviršius (kontrolė); NK – natūraliai baltų plaukų paviršius po 20 ciklų Q-Sun (neigiama kontrolė)

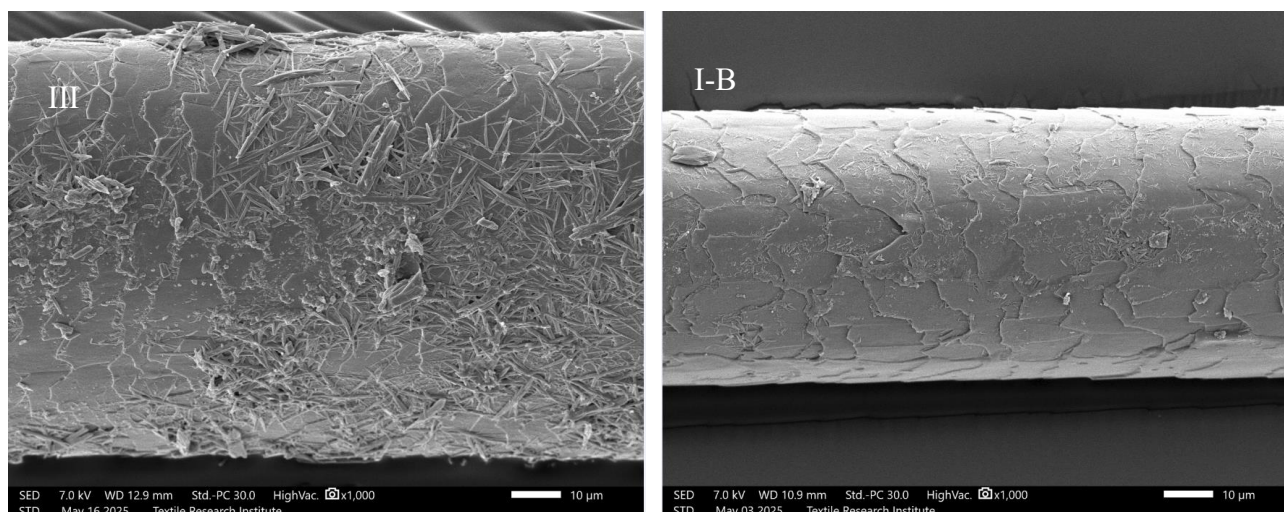
Tolygus produkto padengimas taip pat daro įtaką gautiems rezultatams, todėl 3.12, 3.13 ir 3.14 pav. yra pateikiama visų kompozicijų danga ant natūraliai baltų plaukų paviršiaus.

Galima matyti I kompozijos perteklių plauko paviršiuje (3.12 pav.), o tai paašškina, kodėl kosmetikos produkto formulė, kurioje nėra jokių UV filtrų turi efektingesnę apsaugą nei kai kurios formulės su UV filtrais apsaugant keratiną, cholesterolio esterius ir vaškus (žr. 3.9 ir 3.10 pav.). II kompozicija, kurios sudėtyje yra vandenyje tirpus, UVB spindulius absorbuojantis UV filtras *Parsol*[®] *HS*, parodė efektyviausią rezultatą apsaugoti plaukų lipidus. Šia formuliacija apsaugoto plauko paviršius padengtas tolygia plėvele, prigludžiančia žvynelius.



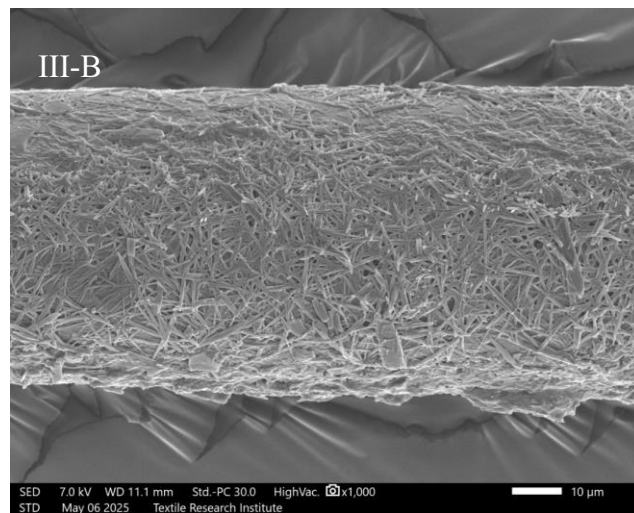
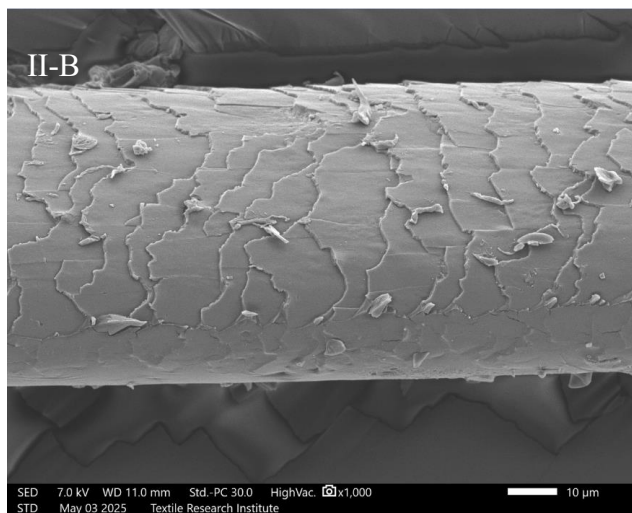
3.12 pav. I – natūraliai baltų plaukų paviršius, padengtas I kompozicijos produktu; II – natūraliai baltų plaukų paviršius, padengtas II kompozicijos produktu

III kompozicija padengto plauko paviršiuje yra matoma stora, bet ne visai tolygi danga, tarpuose yra matomi žvyneliai. Tuo tarpu I-B formuliacijos gelis formavo ploną ir išsibarščiusį sluoksnį (žr. 3.13 pav.)



3.13 pav. III – natūraliai baltų plaukų paviršius, padengtas III kompozicijos produktu; I-B – natūraliai baltų plaukų paviršius, padengtas I-B kompozicijos produktu

3.14 pav. yra matoma, jog II-B kompozicija formavo plėvelę, vietomis uždengiančia žvynelius. Taip pat buvo nustatyta, kad geriausią apsaugą plaukų baltymams suteikusi III-B kompozicija, kurios sudėtyje yra plataus spektro (UVA ir UVB spindulius sugeriantis) lipofiliškas UV filtras *Parsol® Shield*, bei 3,43 % raudonojo baziliko kaliaus kultūros ekstraktas, tvarkingai padengia plauko paviršių produktu – danga buvo stora, plaukų žvyneliai visiškai paslėpti.



3.14 pav. II-B – natūraliai baltų plaukų paviršius, padengtas II-B kompozicijos produktu; III-B – natūraliai baltų plaukų paviršius, padengtas III-B kompozicijos produktu

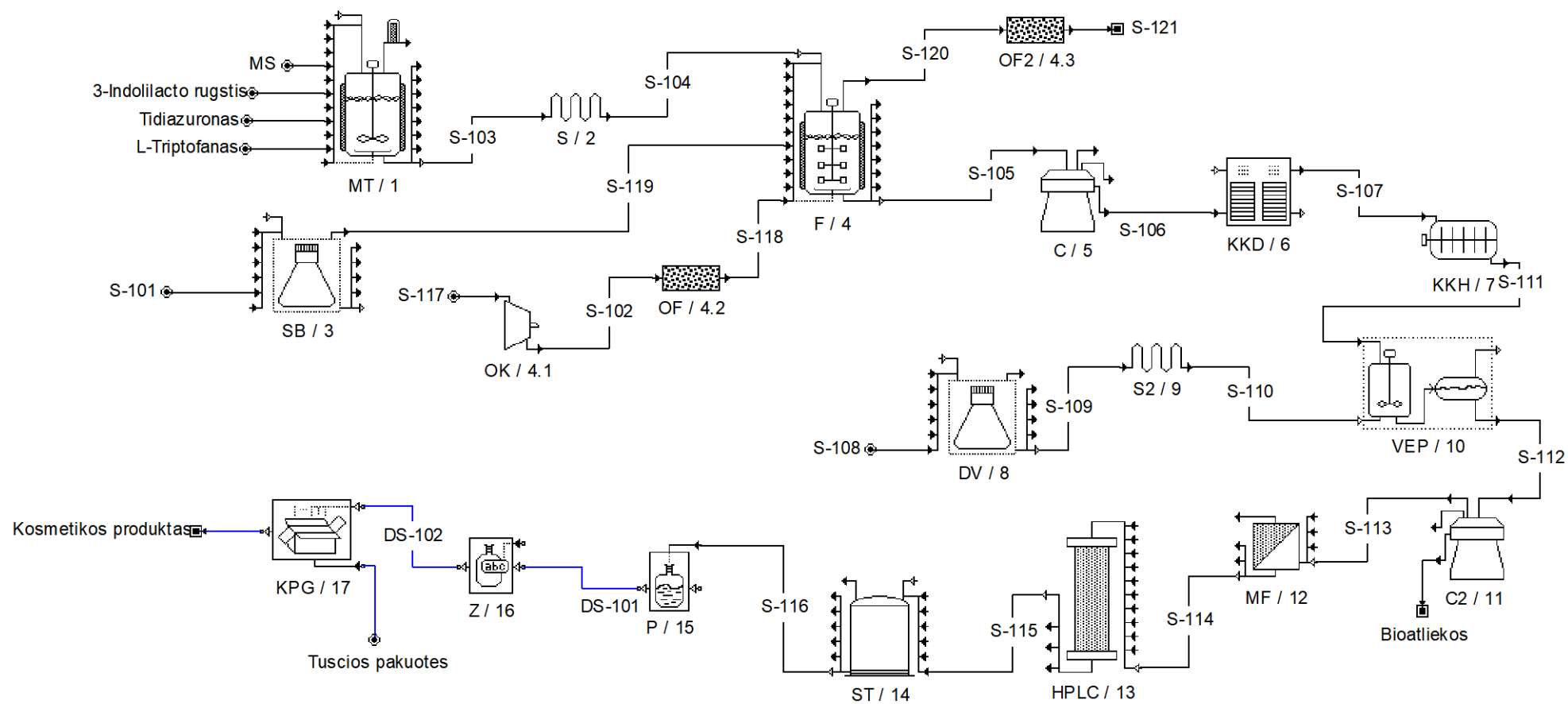
4. Rekomendacijų dalis

4.1. Rekomenduojama flavonoidų gavimo aparatūrinė schema

Paruošiama sterili MS mitybinė terpė, kartu derinant augimo reguliatorius – 3-indolilacto rūgštį ir tidiazuroną, bei aminorūgštį – *L*-triptofaną (MT/1) ir (S/2). Kartu su steriliomis sąlygomis užaugintomis raudonojo baziliko kaliaus kultūromis (SB/3) maitinamoji terpė yra tiekiamą į fermentatorių (F/4). Užtikrinant tinkamas sąlygas ląstelėms augti, prie fermentatoriaus yra prijungiamas oro kompresorius (OK/4.1) bei oro filtras (OF/4.2). Fermentacijos proceso eigoje nuolat per oro filtrą (OF2/4.3) yra išleidžiamas metaboliniams procesams panaudotas oras. Bioprocesui pasibaigus, kaliaus kultūrų suspensija yra centrifuguojama (C/5) ir pašalinus supernatantą – džiovinama (KKD/6). Gauta sausa biomasė homogenizuojama (KKH/7), o pasiekus vienodo smulkumo daleles ir naudojant sterilų vandenį (DV/8) ir (S2/9) vykdoma ekstrakcija. Ekstrakcijos metu yra naudojama 60 °C temperatūra ir maišyklė (VEP/10). Po 45 min, gautas mišinys centrifuguojamas, augalo dalelės perkeliama į bioatliekas, arba galima vykdyti pakartotinę ekstrakciją aliejuje, tokiu būdu išekstrahuojant lipofiliškus junginius, tokius kaip karotinoidai, o supernatantui vykdoma mikrofiltracija (MF/12). Po jos galima pradėti flavonoidų – rutino, kvercetino, kaempferolio, miricetino ir apigenino atskyrimą, naudojant aukšto slėgio skysčių chromatografiją (HPLC/13). Atskirtus bioaktyvius junginius reikia laikyti sandarioje saugykloje, palaikant nuo 4 °C iki -20°C temperatūros (priklausomai nuo laikymo trukmės) (ST/14). Pabaigoje vykdomas pakavimas (P/15), ženklavimas (Z/16) ir kosmetikos produkto, kuriame bus panaudojamas tam tikras flavonoidas, gamyba (KPG/17).

4.1 lentelė. Aparatūrinės schemos žymėjimų apibūdinimas

Žymėjimas	Reikšmė	Žymėjimas	Reikšmė
MT/1	Mitybinės terpės paruošimas	DV/8	Distiliuotas vanduo
S/2	Sterilizavimas	S2/9	Distiliuoto vandens sterilizavimas
SB/3	Sterili raudonojo baziliko augalo suspensija	VEP/10	Vandeninių ekstraktų paruošimas
F/4	Fermentatorius	C2/11	Centrifugavimas
OK/4.1	Oro kompresorius	MF/12	Mikrofiltravimas
OF/4.2	Oro filtras	HPLC/13	Aukšto slėgio skysčių chromatografija
OF2/4.3	Fermentacijos procese panaudoto oro filtras	ST/14	Laikymas
C/5	Centrifugavimas	P/15	Pakavimas
KKD/6	Raudonojo baziliko kaliaus kultūros džiovinimas	Z/16	Ženklavimas
KKH/7	Raudonojo baziliko kaliaus kultūros homogenizavimas	KPG/18	Kosmetikos produkto gamyba



4.1 pav. Flavonoidų gavimo aparatinė schema

Išvados

1. Eksperimento metu buvo užauginta 12 skirtingų raudonojo baziliko (*Ocimum basilicum* var. *purpurascens*) kaliaus kultūrų mėginių, kiekvienos morfologinės augalo dalies – šaknų, stiebų ir lapų – biomasė buvo kultivuojama ant 4 skirtingų mitybinių terpių, derinant augimo reguliatorių 3-indolilacto rūgšties ir tidiazurono koncentracijas bei aminorūgštį – *L*-triptofaną.
2. Augimo reguliatoriaus tidiazurono didesnė koncentracija (5 mg/l) mitybinėse terpėse lėmė intensyvesnes raudonojo baziliko (*Ocimum basilicum* var. *purpurascens*) kaliaus kultūrų antioksidacines savybes bei sukauptą didesnę biologiškai aktyviųjų junginių koncentraciją. Mitybinės terpės su *L*-triptofanu turėjo įtakos lapų kaliaus kultūroms. Nustatyta, jog jų vandeniniuose ekstraktuose sukauptą didesnę antrinių metabolitų koncentraciją, nei ekstraktuose pagamintuose iš raudonojo baziliko lapų kaliaus kultūrų, užaugusių be *L*-triptofano priedo.
3. Atlikus raudonojo baziliko kaliaus kultūrų taikymą plaukų apsaugai nuo UV spinduliuotės, nustatyta, kad
 - a) Raudonojo baziliko kaliaus kultūros ekstraktų savybės nebuvo pakankamos efektyviai apsaugoti plaukų baltymus nuo UV spinduliuotės poveikio, tačiau ekstrakto derinimas su organiniu, UVA ir UVB spindulius absorbuojančiu UV filtru gali reikšmingai sustiprinti plaukų baltymų apsauginį poveikį ir padidinti formulės veiksmingumą.
 - b) Dėl savo hidrofiliškumo raudonojo baziliko kaliaus kultūrų ekstraktas neturėjo reikšmingos įtakos plaukų lipidams. Lipidų apsaugą lėmė UV filtrų savybės bei tolygus produkto pasiskirstymas plauko paviršiuje. Formulė II, tolygiai padengusi plauką ir turinti stipresnį UVB spinduliuotę absorbuojantį filtrą, kiekybiškai geriau apsaugojo lipidus nei formulė su plataus UV spektro filtru.
 - c) Plaukų kosmetikos produktų formules būtų galima patobulinti įtraukiant lipofilinius raudonojo baziliko antioksidantus bei klampumą reguliuojančius komponentus, kurie pagerintų plauko paviršiaus padengimą ir skatintų lipidų radikalų neutralizavimą ląstelių membranų komplekse.

Literatūros sąrašas

1. FERNANDES, C. et al., On Hair Care Physicochemistry: From Structure and Degradation to Novel Biobased Conditioning Agents. *Polymers (Basel)*. 2023, 15, doi:[10.3390/polym15030608](https://doi.org/10.3390/polym15030608).
2. SWIFT, J.A. *Practical Modern Hair Science*; 2012; ISBN 9781932633931.
3. ZHANG, Y. et al., Effect of Shampoo, Conditioner and Permanent Waving on the Molecular Structure of Human Hair. *PeerJ*, 2015, doi:[10.7717/peerj.1296](https://doi.org/10.7717/peerj.1296).
4. ROBBINS, C.R. *Chemical and Physical Behavior of Human Hair*; 1994; ISBN 9783642256103.
5. POWELL, B.C.; ROGERS, G.E. Hair Keratin: Composition, Structure and Biogenesis. *Biol. Integument* 1986, 695–721, doi:[10.1007/978-3-662-00989-5_34](https://doi.org/10.1007/978-3-662-00989-5_34).
6. MISSISSIPPI, S. The photophysics and pphotochemistry of the near-UV Absorbing Amino Acids-II. Tyrosine and Its simple derivatives. *Photochem. Photobiol.* 1984, 39, 563–575.
7. PANDE, C.M. et al., Hair Photodamage : Measurement and Prevention. *J. Soc. Cosmet. Chem.* 1993, 44, 109–122.
8. MAEDA, K.; Mechanism of Cuticle Hole Development in Human Hair Due to UV-Radiation Exposure. *Cosmetics* 2018, 5, doi:[10.3390/cosmetics5020024](https://doi.org/10.3390/cosmetics5020024).
9. TÖRNVALL, U. Pinpointing Oxidative Modifications in Proteins - Recent Advances in Analytical Methods. *Anal. Methods* 2010, 2, 1638–1650, doi:[10.1039/c0ay00375a](https://doi.org/10.1039/c0ay00375a).
10. CODERCH, L. et al., Hair Lipid Structure: Effect of Surfactants. *Cosmetics* 2023, 10, doi:[10.3390/cosmetics10040107](https://doi.org/10.3390/cosmetics10040107).
11. VAGKIDIS, N. et al., Synergy of UV Light and Heat in Peptide Degradation. *J. Photochem. Photobiol. A Chem.* 2023, 439, 114627, doi:[10.1016/j.jphotochem.2023.114627](https://doi.org/10.1016/j.jphotochem.2023.114627).
12. LEE, W.S. Integral Hair Lipid in Human Hair Follicle. *J. Dermatol. Sci.* 2011, 64, 153–158, doi:[10.1016/j.jdermsci.2011.08.004](https://doi.org/10.1016/j.jdermsci.2011.08.004).
13. ZIMMERMANN, M. and HOCKER, H. Typical Fracture Appearance of Broken Wool Fibers After Simulated Sunlight Irradiation. *Text. Res. J.* 1996, 66, 657–660, doi:[10.1177/004051759606601007](https://doi.org/10.1177/004051759606601007).
14. ROSS, A.B. et al., UV and Visible Light Exposure to Hair Leads to Widespread Changes in the Hair Lipidome. *Int. J. Cosmet. Sci.* 2022, 44, 672–684, doi:[10.1111/ics.12810](https://doi.org/10.1111/ics.12810).
15. FURUKAWA, J.Y. et al., Skin Impacts from Exposure to Ultraviolet, Visible, Infrared, and Artificial Lights—a Review. *J. Cosmet. Laser Ther.* 2021, 23, 1–7, doi:[10.1080/14764172.2021.1950767](https://doi.org/10.1080/14764172.2021.1950767).
16. TĚŠÍNSKÁ, P. et al., Environmental Fate of Organic UV Filters: Global Occurrence, Transformation, and Mitigation via Advanced Oxidation Processes. *Environ. Pollut.* 2024, 363, doi:[10.1016/j.envpol.2024.125134](https://doi.org/10.1016/j.envpol.2024.125134).
17. Europos Parlamento Ir Tarybos Reglamentas (EB) Nr. 1223/2009 Dėl Kosmetikos Gaminių. 2017, 1–345.
18. NARLOCH, I. and WEJNEROWSKA, G. An Overview of the Analytical Methods for the Determination of Organic Ultraviolet Filters in Cosmetic Products and Human Samples. *Molecules* 2021, 26, doi:[10.3390/molecules26164780](https://doi.org/10.3390/molecules26164780).
19. FERREIRA, S.M.; GOMES, S.M.; SANTOS, L. A Novel Approach in Skin Care: By-Product Extracts as Natural UV Filters and an Alternative to Synthetic Ones. *Molecules* 2023, 28, doi:[10.3390/molecules28052037](https://doi.org/10.3390/molecules28052037).

20. EKSTEIN, S.F. and HYLWA, S. Sunscreens: A Review of UV Filters and Their Allergic Potential. *Dermatitis* 2023, *34*, 176–190, doi:[10.1097/DER.0000000000000963](https://doi.org/10.1097/DER.0000000000000963).
21. NASIR, A.; FRIEDMAN, A.; WANG, S. Nanotechnology in Dermatology. *Nanotechnol. Dermatology* 2013, *9781461450*, 1–291, doi:[10.1007/978-1-4614-5034-4](https://doi.org/10.1007/978-1-4614-5034-4).
22. ZACCARIELLO, G. et al., Bismuth Titanate-Based UV Filters Embedded Mesoporous Silica Nanoparticles: Role of Bismuth Concentration in the Self-Sealing Process. *J. Colloid Interface Sci.* 2019, *549*, 1–8, doi:[10.1016/j.jcis.2019.04.042](https://doi.org/10.1016/j.jcis.2019.04.042).
23. O'KEEFE, S.J. et al., ZnO Nanoparticles and Organic Chemical UV-Filters Are Equally Well Tolerated by Human Immune Cells. *Nanotoxicology* 2016, *10*, 1287–1296, doi:[10.1080/17435390.2016.1206148](https://doi.org/10.1080/17435390.2016.1206148).
24. FREITAS, L.L. and ESPÓITO, B.P. Toxicity of zinc oxide to scleractinian corals and zooxanthellae: a brief review. *Quim. Nova*,. 2023, *46*, 266–272, doi: [10.21577/0100-4042.20230003](https://doi.org/10.21577/0100-4042.20230003).
25. BREAKELL, T. et al., Ultraviolet Filters: Dissecting Current Facts and Myths. *J. Clin. Med.* 2024, *13*, 1–24, doi:[10.3390/jcm13102986](https://doi.org/10.3390/jcm13102986).
26. HUANG, Y. et al., Risks of Organic UV Filters: A Review of Environmental and Human Health Concern Studies. *Sci. Total Environ.* 2021, *755*, 142486, doi:[10.1016/j.scitotenv.2020.142486](https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.142486).
27. KWON, B. and CHOI, K. Occurrence of Major Organic UV Filters in Aquatic Environments and Their Endocrine Disruption Potentials: A Mini-Review. *Integr. Environ. Assess. Manag.* 2021, *17*, 940–950, doi:[10.1002/ieam.4449](https://doi.org/10.1002/ieam.4449).
28. CEFALI, L.C. et al., Plant-Based Active Photoprotectants for Sunscreens. *Int. J. Cosmet. Sci.* 2016, *38*, 346–353, doi:[10.1111/ics.12316](https://doi.org/10.1111/ics.12316).
29. CHEN, L.; HU, J.Y.; WANG, S.Q. The Role of Antioxidants in Photoprotection: A Critical Review. *J. Am. Acad. Dermatol.* 2012, *67*, 1013–1024, doi:[10.1016/j.jaad.2012.02.009](https://doi.org/10.1016/j.jaad.2012.02.009).
30. NGOC, L.T.N. et al., Recent Trends of Sunscreen Cosmetic: An Update Review. *Cosmetics* 2019, *6*, 1–15, doi:[10.3390/COSMETICS6040064](https://doi.org/10.3390/COSMETICS6040064).
31. NUNES, A.R. et al., Photoprotective Potential of Medicinal Plants from Cerrado Biome (Brazil) in Relation to Phenolic Content and Antioxidant Activity. *J. Photochem. Photobiol. B Biol.* 2018, *189*, 119–123, doi:[10.1016/j.jphotobiol.2018.10.013](https://doi.org/10.1016/j.jphotobiol.2018.10.013).
32. HSIEH, C.L.; YEN, G.C.; CHEN, H.Y. Antioxidant Activities of Phenolic Acids on Ultraviolet Radiation-Induced Erythrocyte and Low Density Lipoprotein Oxidation. *J. Agric. Food Chem.* 2005, *53*, 6151–6155, doi:[10.1021/jf050707a](https://doi.org/10.1021/jf050707a).
33. GONZÁLEZ MORENO, A. et al., Radiationless Mechanism of UV Deactivation by Cuticle Phenolics in Plants. *Nat. Commun.* 2022, *13*, doi:[10.1038/s41467-022-29460-9](https://doi.org/10.1038/s41467-022-29460-9).
34. JOSÉ, M.T. DE A.F. et al., Flavonoids as Photoprotective Agents: A Systematic Review. *J. Med. Plants Res.* 2016, *10*, 848–864, doi:[10.5897/jmpr2016.6273](https://doi.org/10.5897/jmpr2016.6273).
35. STAHL, W.; SIES, H. β -Carotene and Other Carotenoids in Protection from Sunlight. *Am. J. Clin. Nutr.* 2012, *96*, 1179S–1184S, doi:[10.3945/ajcn.112.034819](https://doi.org/10.3945/ajcn.112.034819).
36. MILUTINOV, J. et al., The Potential of Natural Compounds in UV Protection Products. *Molecules* 2024, *29*, doi:[10.3390/molecules29225409](https://doi.org/10.3390/molecules29225409).
37. JESUS, A. et al., UV Filters: Challenges and Prospects. *Pharmaceuticals* 2022, *15*, 1–26, doi:[10.3390/ph15030263](https://doi.org/10.3390/ph15030263).

38. KUMAR, N. and JOSE, J. Current Developments in the Nanomediated Delivery of Photoprotective Phytochemicals. *Environ. Sci. Pollut. Res.* 2020, 27, 38446–38471, doi:[10.1007/s11356-020-10100-y](https://doi.org/10.1007/s11356-020-10100-y).
39. CHAVES, R.P.F. et al., Convective Drying of Purple Basil (*Ocimum Basilicum* L.) Leaves and Stability of Chlorophyll and Phenolic Compounds during the Process. *Plants* 2023, 12, doi:[10.3390/plants12010127](https://doi.org/10.3390/plants12010127).
40. SHAHRAJABIAN, M.H.; SUN, W.; CHENG, Q. Chemical Components and Pharmacological Benefits of Basil (*Ocimum Basilicum*): A Review. *Int. J. Food Prop.* 2020, 23, 1961–1970, doi:[10.1080/10942912.2020.1828456](https://doi.org/10.1080/10942912.2020.1828456).
41. VIRŠILĖ, A. et al., G. Distinct Impacts of UV-A Light Wavelengths on Nutraceutical and Mineral Contents in Green and Purple Basil Cultivated in a Controlled Environment. *Horticulturae* 2023, 9, doi:[10.3390/horticulturae9111168](https://doi.org/10.3390/horticulturae9111168).
42. PRINSI, B. et al., Insight into Composition of Bioactive Phenolic Compounds in Leaves and Flowers of Green and Purple Basil. *Plants* 2020, 9, doi:[10.3390/plants9010022](https://doi.org/10.3390/plants9010022).
43. MCCANCE, K.R. et al., Influence of Plant Maturity on Anthocyanin Concentrations, Phenolic Composition, and Antioxidant Properties of 3 Purple Basil (*Ocimum Basilicum* L.) Cultivars. *J. Food Compos. Anal.* 2016, 53, 30–39, doi:[10.1016/j.jfca.2016.08.009](https://doi.org/10.1016/j.jfca.2016.08.009).
44. IWASHINA, T. Contribution to Flower Colors of Flavonoids Including Anthocyanins: A Review. *Nat. Prod. Commun.* 2015, 10, 529–544, doi:[10.1177/1934578x1501000335](https://doi.org/10.1177/1934578x1501000335).
45. CHABOT, G.G. et al., Flavonoids in Cancer Prevention and Therapy: Chemistry, Pharmacology, Mechanisms of Action, and Perspectives for Cancer Drug Discovery *Alternative and Complementary Therapies for Cancer: Integrative Approaches and Discovery of Conventional Drugs*. 2010; pp. 583–612 ISBN 978-1-4419-0020-3.
46. WELSCH, R.; TOURAEV, A.; PALME, K. Small Molecules Mediate Cellular Reprogramming across Two Kingdoms. *J. Exp. Bot.* 2021, 72, 7645–7647, doi:[10.1093/jxb/erab493](https://doi.org/10.1093/jxb/erab493).
47. SARMA, M.K. et al., In Vitro Techniques in Plant Breeding. *Advanced Crop Improvement, Volume 1* 2023; pp. 185–215 ISBN 978-3-031-28146-4, doi: [10.1007/978-3-031-28146-4_8](https://doi.org/10.1007/978-3-031-28146-4_8).
48. PARR, A.J. The Production of Secondary Metabolites by Plant Cell Cultures. *J. Biotechnol.* 1989, 10, 1–26, doi:[10.1016/0168-1656\(89\)90089-8](https://doi.org/10.1016/0168-1656(89)90089-8).
49. RAMATA-STUNDA, A. et al., In Vitro Safety and Efficacy Evaluation of a Juniperus Communis Callus Culture Extract and Matricaria Recutita Processing Waste Extract Combination as a Cosmetic Ingredient. *Plants* 2024, 13, doi:[10.3390/plants13020287](https://doi.org/10.3390/plants13020287).
50. JAKOVLJEVIĆ, D. et al., Basil (*Ocimum* L.) Cell and Organ Culture for the Secondary Metabolites Production: A Review. *Plant Cell. Tissue Organ Cult.* 2022, 149, 61–79, doi:[10.1007/s11240-022-02286-5](https://doi.org/10.1007/s11240-022-02286-5).
51. GHANIM, N.S. and JAYED, G.A. The Effect of Brassinolide on Active Compounds Production of Callus of *Ocimum Basilicum* L. *In Vitro. Tikrit J. Agric. Sci.* 2024, 24, 255–265, doi:[10.25130/tjas.24.4.21](https://doi.org/10.25130/tjas.24.4.21).
52. BELLO, O.A. et al., Comparative Morphological Effect of Plant Growth Regulators on Callus Induced from in Vitro-Grown Leaf Explants of Solanecio Biafrae. *Int. J. Hortic. Sci. Technol.* 2025, 12, 881–890, doi:[10.22059/IJHST.2024.374632.817](https://doi.org/10.22059/IJHST.2024.374632.817).
53. NAZIR, M. et al., Differential Production of Phenylpropanoid Metabolites in Callus Cultures of *Ocimum Basilicum* L. With Distinct in Vitro Antioxidant Activities and in Vivo Protective

- Effects against UV Stress. *J. Agric. Food Chem.* 2019, 67, 1847–1859, doi:[10.1021/acs.jafc.8b05647](https://doi.org/10.1021/acs.jafc.8b05647).
54. IBRAHIM, M.M.; DANIAL, N.; EL-BAHR, M.K. Ethanolic Extract of Sweet Basil Callus Cultures as a Source of Antioxidant and Sun-Protective Agents. *Egypt. Pharm. J.* 2023, 22, 78–86, doi:[10.4103/epj.epj_124_22](https://doi.org/10.4103/epj.epj_124_22).
 55. ZAMAN, G. et al., Effects of Yeast Extract on the Production of Phenylpropanoid Metabolites in Callus Culture of Purple Basil (*Ocimum Basilicum* L. Var *Purpurascens*) and Their in-Vitro Evaluation for Antioxidant Potential. *Plant Cell. Tissue Organ Cult.* 2022, 150, 543–553, doi:[10.1007/s11240-022-02303-7](https://doi.org/10.1007/s11240-022-02303-7).
 56. GEORGIEV, V. et al., Plant Cell Culture as Emerging Technology for Production of Active Cosmetic Ingredients. *Eng. Life Sci.* 2018, 18, 779–798, doi:[10.1002/elsc.201800066](https://doi.org/10.1002/elsc.201800066).
 57. DIB, N. et al., Biocompatible Solvents and Ionic Liquid-Based Surfactants as Sustainable Components to Formulate Environmentally Friendly Organized Systems. *Polymers (Basel)*. 2021, 13, doi:[10.3390/polym13091378](https://doi.org/10.3390/polym13091378).
 58. MALINAUSKYTE, E. et al., Effect of Equilibrium PH on the Structure and Properties of Bleach-Damaged Human Hair Fibers. *Biopolymers* 2020, 111, 1–11, doi:[10.1002/bip.23401](https://doi.org/10.1002/bip.23401).
 59. ISTRATE, D. et al., The Effect of PH on the Thermal Stability of Fibrous Hard Alpha-Keratins. *Polym. Degrad. Stab.* 2013, 98, 542–549, doi:[10.1016/j.polymdegradstab.2012.12.001](https://doi.org/10.1016/j.polymdegradstab.2012.12.001).
 60. PRESSI, G. et al., Formulation and Physical Characterization of a Polysaccharidic Gel for the Vehiculation of an Insoluble Phytoextract for Mucosal Application. *Polysaccharides* 2022, 3, 728–744, doi:[10.3390/polysaccharides3040042](https://doi.org/10.3390/polysaccharides3040042).
 61. KHAN, M.F. et al., Emulsion Separation, Classification and Stability Assessment. *Journal of Pharmacy and Pharmaceutical sciences*, 2014, ISSN 2311-4673, .
 62. GIANCOLA, G. and MALINAUSKYTE, E. Adaptive measures: Translating UV protection to hair claims. *Cosmetics & Toiletries Magazine*, 2019 134(4), 34-46.
 63. SCAGEL, C.F. and LEE, J. Phenolic Composition of Basil Plants Is Differentially Altered by Plant Nutrient Status and Inoculation with Mycorrhizal Fungi. *HortScience* 2012, 47, 660–671, doi:[10.21273/hortsci.47.5.660](https://doi.org/10.21273/hortsci.47.5.660).
 64. TUDORACHE, M.; MCDONALD, J.L.; BORDENAVE, N. Gallic Acid Reduces the Viscosity and Water Binding Capacity of Soluble Dietary Fibers. *Food Funct.* 2020, 11, 5866–5874, doi:[10.1039/d0fo01200a](https://doi.org/10.1039/d0fo01200a).
 65. HERRLING, T.; JUNG, K.; FUCHS, J. The Role of Melanin as Protector against Free Radicals in Skin and Its Role as Free Radical Indicator in Hair. *Spectrochim. Acta - Part A Mol. Biomol. Spectrosc.* 2008, 69, 1429–1435, doi:[10.1016/j.saa.2007.09.030](https://doi.org/10.1016/j.saa.2007.09.030).
 66. MARTINS, E. et al., Bleached Hair as Standard Template to Insight the Performance of Commercial Hair Repair Products. *Cosmetics* 2024, 11, 150, doi:[10.3390/cosmetics11050150](https://doi.org/10.3390/cosmetics11050150).
 67. WORTMANN, F.; SPRINGOB, C.; SENDELBACH, G. Investigations of Cosmetically Treated Human Hair by Differential Scanning Calorimetry in Water. *Journal of Cosmetic Science* 2002, 53, 219–228.
 68. BASIT, A. et al., Health Improvement of Human Hair and Their Reshaping Using Recombinant Keratin K31. *Biotechnol. Reports* 2018, 20, e00288, doi:[10.1016/j.btre.2018.e00288](https://doi.org/10.1016/j.btre.2018.e00288).
 69. FUCHS, E. and WEBER, K. Intermediate Filaments: Structure, Dynamics, Function, and Disease. *Annu. Rev. Biochem.* 1994, 63, 345–382, doi:[10.1146/annurev.bi.63.070194.002021](https://doi.org/10.1146/annurev.bi.63.070194.002021).

70. FERNÁNDEZ, E. et al., Efficacy of Antioxidants in Human Hair. *J. Photochem. Photobiol. B Biol.* 2012, *117*, 146–156, doi:[10.1016/j.jphotobiol.2012.09.009](https://doi.org/10.1016/j.jphotobiol.2012.09.009).
71. OTTAVIANI, M.; CAMERA, E.; PICARDO, M. Lipid Mediators in Acne. *Mediators Inflamm.* 2010, *2010*, doi:[10.1155/2010/858176](https://doi.org/10.1155/2010/858176).
72. STEWART, M.E.; DOWNING, D.T.; STRAUSS, J.S. Sebum Secretion and Sebaceous Lipids. *Dermatol. Clin.* 1983, *1*, 335–344, doi:[10.1016/S0733-8635\(18\)31019-2](https://doi.org/10.1016/S0733-8635(18)31019-2).

Publikacijų sąrašas

Šio projekto tyrimų rezultatai buvo pristatyti respublikinėje ir tarptautinėje konferencijose.

1. ČALKAITĖ, I., JONUŠKIENĖ, I., MALINAUSKYTĖ, E. Raudonojo baziliko (*Ocimum basilicum* L.) kaliaus kultūrų ekstraktų potencialas kosmetikoje: antioksidacinės, fitocheminės savybės ir apsauga nuo UV spindulių. Respublikinio projekto „Studentų tyrimai semestrų metu 24/25” baigiamosios konferencijos „Naujoji karta su LMT” pranešimų medžiaga. 2025, p. 128-130. ISSN 2669-2074.
2. ČALKAITĖ, I., JONUŠKIENĖ, I. Effect of growth hormones on biologically active compounds and antioxidant properties of purple basil (*Ocimum basilicum* var. *purpurascens*) callus cultures. Tarptautinės studentų mokslinės ir praktinės konferencijos „Good solutions for gaps in pharmacy: in line with the European priorities” pranešimų medžiaga. 2024, p. 116-117. ISBN 978-966-941-978-8.