



VILNIAUS UNIVERSITETAS
MEDICINOS FAKULTETAS

Farmacija

Biomedicinos mokslų instituto Farmacijos ir farmakologijos centras

Kamilė Armalaitė, 5 kursas, I grupė

VIENTISŲJŲ STUDIJŲ MAGISTRO

BAIGIAMASIS DARBAS

Distiliavimo trukmės įtaka fenolinių junginių kiekiui *Thymus × citriodorus* dezodoruotoje žaliavoje ir vandeniniuose ekstraktuose bei eterinio aliejaus kiekybinei sudėčiai

Effect of Distillation Duration on the Amount of Phenolic Compounds in *Thymus × citriodorus* Deodorised Raw Material and Aqueous Extracts, and on Essential Oil Percentage

Darbo vadovas

doc. dr. Kristina Ložienė

Farmacijos centro vadovė

doc. dr. Kristina Garuolienė

Vilnius, 2026 m.

Studento elektroninio pašto adresas: kamile.armalaite@mf.stud.vu.lt

TURINYS

SANTRAUKA.....	4
SUMMARY	6
ĮVADAS.....	8
Darbo tikslas:	9
Darbo uždaviniai:	9
1. LITERATŪROS APŽVALGA	10
1.1 Čiobrelių (Thymus) gentis, būdingi požymiai, paplitimas, panaudojimas	10
1.2 Thymus genties hibridas – citrininis čiobrelis (Thymus × citriodorus).....	10
1.3 Eteriniai aliejai, jų sudėtis	11
1.4 Eterinių aliejų išskyrimo būdai.....	12
1.4.1. Ekstrakcija tirpikliu	12
1.4.2. Enfleuražas	12
1.4.3. CO ₂ ekstrakcija	12
1.4.4. Turbo distiliacijos ekstrakcija.....	12
1.4.5. Garų distiliacija.....	13
1.4.6. Hidrodistiliacija	13
1.5 Eteriniai aliejai ir Thymus gentis.....	13
1.6 Thymus × citriodorus eteriniai aliejai.....	14
1.7 Distiliavimo trukmės įtaka eterinio aliejaus kiekiui ir sudėčiai	14
1.8 Distiliavimo trukmės įtaka Thymus × citriodorus eterinio aliejaus kiekiui ir sudėčiai.....	15
2. Fenoliniai junginiai	15
2.1 Fenolinių junginių išskyrimas	17
2.1.1. Kietosios-skystosios fazės ekstrakcija.....	17
2.1.2. Ekstrakcija ultragarsu	17
2.1.3. Superkritinių skysčių ekstrakcija.....	18
2.1.4. Ekstrakcija mikrobangomis	18
2.2 Fenoliniai junginiai ir Thymus gentis.....	18
2.3 Thymus × citriodorus fenoliniai junginiai	19
2.4 Distiliavimo trukmės įtaka fenolinių junginių kiekiui.....	20
2.5 Tirpiklio įtaką fenolinių junginių ekstrakcijai	20
2.5.1 Metanolis	21

2.5.2 Acetonas.....	22
2.5.3 Etanolis	22
2. TYRIMO METODIKA	23
2.1 Tyrimo objektas	23
2.2 Naudota aparatūra.....	23
2.3 Reagentai	24
2.5 Eterinio aliejaus išskyrimas ir kiekybinis nustatymas.....	24
2.6 Vandenių Thymus × citrionų tirpalų ekstrahavimas	24
2.7. Metanolinio, etanolinio ir acetoninio Thymus × citrionų ekstrakto paruošimas	25
2.8 Drėgmės kiekio ir sausosios medžiagos kiekio nustatymas augalinėje žaliavoje	26
2.9 Bendro fenolinių junginių kiekio nustatymas.....	27
3. Statistinė analizė	28
3. REZULTATAI IR REZULTATŲ APTARIMAS.....	29
3.1 Thymus × citrionų eterinio aliejaus kiekio priklausomybė nuo distiliavimo trukmės	29
3.2 Bendro fenolinių junginių kiekio dezodoruotoje žaliavoje priklausomybė nuo distiliavimo trukmės, palyginimas su nedeodoruota žaliava	30
3.3 Bendro fenolinių junginių kiekio vandeniame Thymus × citrionų ekstrakto priklausomybė nuo distiliavimo trukmės	36
4. IŠVADOS	39
5. REKOMENDACIJOS	40
ŠALTINIAI.....	41
PADĖKA	49

SANTRAUKA

Kamilės Armalaitės magistro baigiamasis darbas „Distiliavimo trukmės įtaka fenolinių junginių kiekiui *Thymus* × *citriodorus* dezodoruotoje žaliavoje ir vandeniniuose ekstraktuose bei eterinio aliejaus kiekybinei sudėčiai“. Darbo vadovė Doc. dr. Kristina Ložienė, Vilniaus Universitetas, Medicinos fakultetas, Biomedicinos mokslų institutas (Farmacijos ir farmakologijos centras), 2026 m.

Darbo tikslas: Įvertinti distiliavimo trukmės įtaką bendram fenolinių junginių kiekiui citrininio čiobrelio (*Thymus* × *citriodorus*) dezodoruotoje žaliavoje ir vandeniniuose ekstraktuose bei eterinio aliejaus kiekiui.

Darbo uždaviniai: 1. Nustatyti distiliavimo trukmės įtaką iš *T. × citriodorus* išdistiliuojamo eterinio aliejaus kiekiui. 2. Nustatyti ir palyginti bendro fenolinių junginių, ekstrahuotų skirtingais organiniais tirpikliais (metanoliu, etanoliu ir acetonu), kiekius, nedeodoruotoje ir skirtingą laiką distiliuotoje *T. × citriodorus* žaliavoje. 3. Nustatyti distiliavimo trukmės įtaką bendram fenolinių junginių kiekiui distiliavimo metu gautuose vandeniniuose *T. × citriodorus* žaliavos ekstraktuose.

Tyrimo objektas ir metodika: *T. × citriodorus* antžeminė dalis, surinkta žydėjimo metu ir išdžiovinta. Eteriniai aliejai iš *T. × citriodorus* žaliavos išskirti Klevengerio tipo aparatu distiliavimo būdu, taikant skirtingas distiliavimo trukmes. Bendras fenolinių junginių kiekis dezodoruotose žaliavose ir eterinių aliejų distiliavimo metu gautuose vandeniniuose ekstraktuose nustatytas spektrofotometriškai Folin-Ciocalteau metodu. Fenoliniai junginiai iš dezodoruotų žaliavų buvo ekstrahuojami skirtingais organiniais tirpikliais – metanoliu, etanoliu ir acetonu.

Rezultatai ir išvados:

Tarp išgauto *T. × citriodorus* eterinio aliejaus kiekio ir distiliavimo trukmės nustatytas teigiamas koreliacinis ryšys ($r_s = 0,92$, $p < 0,05$). Daugiausia eterinių aliejų išdistiliuota žaliavą distiliuojant 40 minučių ($0,57 \pm 0,02$ %), o ilgesnis distiliavimas (50 – 120 minučių) buvo nebeefektyvus. Nedeodoruotoje *T. × citriodorus* žaliavoje bendras fenolinių junginių kiekis, nepriklausomai nuo ekstrakcijai naudoto tirpiklio, vidutiniškai sudarė $73,9 \pm 6,7$ mg GRE/g, o dezodoruotose *T. × citriodorus* žaliavose buvo 1,5 – 3,8 karto mažesnis ir mažėjo ilgėjant distiliavimo trukmei. Didžiausi fenolinių junginių kiekiai *T. × citriodorus* dezodoruotoje žaliavoje nustatyti trumpesnio distiliavimo metu, o efektyviausiai juos ekstrahavo acetonas. Ekstrahuojant fenolinius junginius iš nedeodoruotos *T. × citriodorus* žaliavos, efektyviausias tirpiklis buvo etanolis ($79,6 \pm 1,0$ mg GRE/g), o mažiausiai efektyvus – acetonas ($65,8 \pm 1,5$ mg GRE/g). Vandeniniuose *T. × citriodorus* ekstraktuose fenolinių junginių kiekis

didėjo ilgėjant distiliavimo trukmei ($r_s = 0,63$, $p = 0,05$). Mažiausias bendras fenolinių junginių kiekis nustatytas vandeniniame ekstrakte, gautame po 5 minučių distiliavimo ($63,4 \pm 1,5$ mg GRE/ml), didžiausias – po 30 minučių distiliavimo ($95,4 \pm 1,0$ mg GRE/ml), o skirtumas tarp šių reikšmių buvo statistiškai reikšmingas ($p < 0,05$).

SUMMARY

Kamile Armalaitė's Master's Thesis „Effect of Distillation Duration on the Amount of Phenolic Compounds in *Thymus × citriodorus* Deodorised Raw Material and Aqueous Extracts, and on Essential Oil Percentage“.

Aim of the study: To evaluate the influence of distillation time on the content of total phenolic compounds in deodorized lemon thyme (*T. × citriodorus*) material and water extracts, as well as on the yield of essential oil.

Objectives of the study: 1. To determine the effect of distillation time on the essential oil yield of *Thymus × citriodorus*. 2. To determine and compare the contents of total phenolic compounds extracted using different organic solvents (methanol, ethanol and acetone) in non-deodorized and differently deodorized *T. × citriodorus* material. 3. To evaluate the effect of extraction time on the content of total phenolic compounds in water extract of *T. × citriodorus*.

Object and methods: The aerial parts of *T. × citriodorus* were collected during the flowering stage and then dried. Essential oils from *T. × citriodorus* raw material were obtained by distillation using a Clevenger-type apparatus, applying different distillation durations. The total phenolic compounds in the deodorized plant material and in the aqueous extracts obtained during essential oil distillation was determined spectrophotometrically using the Folin-Ciocalteu method. Phenolic compounds from the deodorized plant material were extracted using different organic solvents – methanol, ethanol and acetone.

Results and conclusions:

A positive correlation was established between essential oil yield and distillation time ($r_s = 0,92$, $p < 0,05$). The highest yield of essential oil was obtained after 40 minutes of distillation ($0.57 \pm 0.02\%$), while longer distillation (50 – 120 minutes) was no longer effective. In non-deodorized *T. × citriodorus* raw material, the total phenolic compounds, regardless of the extraction solvent used, averaged 73.9 ± 6.7 mg GRE/g, whereas in deodorized samples it was 1.5 – 3.8 times lower and decreased with increasing distillation time. The highest phenolic contents in *T. × citriodorus* deodorized material were found at shorter distillation times, and acetone was the most effective solvent for their extraction. In contrast, when extracting phenolic compounds from non-deodorized *T. × citriodorus* raw material, ethanol was the most effective solvent (79.6 ± 1.0 mg GRE/g), while acetone was the least effective (65.8 ± 1.5 mg GRE/g). In *T. × citriodorus* water extracts, the total phenolic compounds increased with distillation time

($r_s = 0,63$, $p = 0,05$). The lowest total phenolic content was found in the extract obtained after 5 minutes of distillation (63.4 ± 1.5 mg GRE/ml), and the highest after 30 minutes (95.4 ± 1.0 mg GRE/ml), with the difference being statistically significant ($p < 0.05$).

IVADAS

Čiobrelių (*Thymus*) gentis yra viena labiausiai paplitusių ir farmakologiškai reikšmingiausių Lamiaceae (notrelinių) šeimos taksonominių grupių, apimanti daugiau nei 215 rūšių (1). Tai daugiametės, aromatinės ir vaistinės augalų rūšys bei puskrūmiai, natūraliai paplitę Šiaurės Afrikoje, Azijoje, Europoje, ypač Viduržemio jūros regione. Šios genties rūšių augalai yra ypatingai vertinami dėl juose besikaupiančių eterinių aliejų ir fenolinių junginių, todėl yra itin paklausios kosmetikos bei farmacijos pramonėse (2).

Citrininis čiobrelis (*Thymus × citriodorus*) yra Pietvakarių Europoje natūraliai paplitęs tarprūšinis hibridas, kilęs iš *Thymus pulegioides* ir *Thymus vulgaris* rūšių kryžminimosi. Šis augalas pasižymi citrinos aromatu bei švelniu, saldžiarūgščiu gėlių kvapu, išsiskiriančiu iš kitų *Thymus* genties rūšių. *T. × citriodorus* sudėtyje aptinkama gausa skirtingų bioaktyvių junginių (3).

Eteriniai aliejai yra augaluose besikaupiančių lakių junginių mišiniai, skirtingų rūšių augalams suteikiantys specifinį aromatą ir biologinį aktyvumą. *Thymus* genties augalų eterinių aliejų sudėtis yra labai įvairi (4). Pagrindinė *T. × citriodorus* eterinio aliejaus sudedamoji dalis yra geraniolis, pasižymintis antibakteriniu aktyvumu. Kartu su geranioliu randami ir biochemiškai susiję junginiai: nerolis, geranialis ir neralis (5).

Fenoliniai junginiai yra gausiausia augalų antrinių metabolitų grupė, kurią sudaro daugiau nei 8000 žinomų molekulinė struktūrų. Fenolinių junginių grupei priskiriami taninai, fenolio rūgštys, stilbenai, lignanai ir flavonoidai (6). *T. × citriodorus* fenoliniai junginiai yra vieni svarbiausių iš jo bioaktyviųjų sudedamųjų dalių, lemiančių augalo farmakologinį aktyvumą. Pagrindinis fenolinis junginys šiame augale yra rozmarino rūgštis, pasižyminti stipriomis antioksidacinėmis savybėmis (7). Taip pat aptinkama luteolino darinių, flavanoidų, apigenino, kvercetino, salvianolinės bei kavos rūgšties (3). Šie junginiai pasižymi stipriu antioksidaciniu, antibakteriniu poveikiu (8).

Norint ištirti šių bioaktyvių medžiagų sudėtį žaliavoje ir kiekybinius pokyčius jų išskyrimo metu, būtina pasirinkti tinkamus išskyrimo būdus bei sąlygas. Pavyzdžiui, distiliavimo trukmė gali reikšmingai paveikti tiek eterinio aliejaus kiekį, tiek jo cheminę sudėtį ir biologinį aktyvumą (9). Eterinių aliejų distiliavimo metu gaunama dezodoruota žaliava bei vandeninis ekstraktas, kaip šalutiniai distiliavimo produktai yra taip pat verti dėmesio, nes juose gali būti likę reikšmingi kiekiai nelakių junginių, tokių kaip fenoliniai junginiai (10). Taip pat fenolinių junginių ekstrahavimui įtakos turi polinių tirpiklių (tokių kaip metanolis, etanolis, acetonas) ar jų mišinių su vandeniu pasirinkimas (11).

Darbo tikslas:

Įvertinti distiliavimo trukmės įtaką bendram fenolinių junginių kiekiui citrininio čiobrelio (*Thymus × citriodorus*) dezodoruotoje žaliavoje ir vandeniniuose ekstraktuose bei eterinio aliejaus kiekiui.

Darbo uždaviniai:

1. Nustatyti distiliavimo trukmės įtaką iš *T. × citriodorus* išdistiliuojamo eterinio aliejaus kiekiui.
2. Nustatyti ir palyginti bendrus fenolinių junginių, ekstrahuotų skirtingais organiniais tirpikliais (metanoliu, etanoliu ir acetonu), kiekius nedezodoruotoje ir skirtingą laiką distiliuotoje *T. × citriodorus* dezodoruotoje žaliavoje;
3. Nustatyti ekstrahavimo trukmės įtaką bendram fenolinių junginių kiekiui distiliavimo metu gautuose vandeniniuose *T. × citriodorus* žaliavos ekstraktuose.

1. LITERATŪROS APŽVALGA

1.1 Čiobrelių (*Thymus*) gentis, būdingi požymiai, paplitimas, panaudojimas

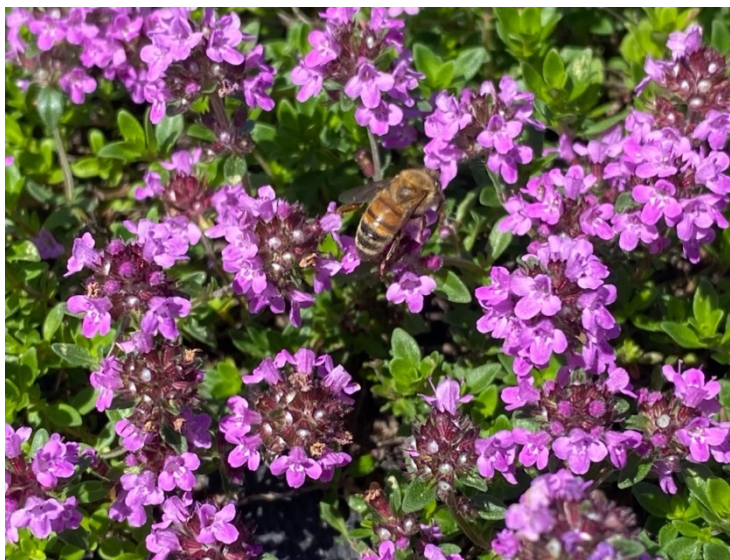
Notrelinių (*Lamiaceae*) šeima yra šešta pagal rūšių gausumą žiedinių augalų šeima. Ji apima 236 gentis ir daugiau nei 7000 rūšių (12). Gausiausios rūšimis gentys yra *Salvia*, *Scutellaria*, *Stachys*, *Teucrium* ir *Thymus*. Notrelinių šeimai priklausantys augalai kaupia daug eterinių aliejų lapuose, bet aptinkama ir žieduose, vaisiuose, sėklose, medienoje bei šaknyse (13).

Thymus gentis, priklausanti *Lamiaceae* šeimai, apima įvairias vaistažolių rūšis, pasižyminčias medicininėmis ir aromatinėmis savybėmis. Ši gentis yra kilusi iš Viduržemio jūros regiono, Iberijos pusiasalio (14). *Thymus* gentis jungia apie 250 taksonų, tarp kurių priskaičiuojama apie 214 rūšių ir 36 pogrupių. Tai žemaūgiai, aromatingi, puskrūmiai, kurių aukštis gali svyruoti nuo 5 iki 30 cm. Lapai maži, priešiniai, turi liaukinius plaukelius, kuriuose kaupiami eteriniai aliejai, o keturbriaunis arba apvalus plaukuotas stiebas gali būti stačias arba šliaužiantis (15). Žiedai dažniausiai susitelkę į grupeles stiebų viršūnėse ir formuoja žiedynus. Rūšių, turinčių trumpesnius tarpubamblius, žiedynai yra sferiniai arba galvutės formos (16). Rūšys auga gerai drenuotame, šarminiame dirvožemyje, nuo šiltų, sausų, akmeningų pakrantės vietų iki vėsesnių, drėgnų, kalningų šlaitų (17). *Thymus* genties individai yra atsparūs augalai, gebantys prisitaikyti prie ekstremalių sąlygų, tokių kaip temperatūros pokytis ar vandens stygius. Vegetacijos periodas gali trukti iki 210 dienų, paprastai sėklos sudygta per 4 – 5 dienas, o žydėjimas prasideda po 40 – 50 dienų (18).

1.2 *Thymus* genties hibridas – citrininis čiobrelis (*Thymus* × *citriodorus*)

Citrininis čiobrelis pirmą kartą aprašytas kaip rūšis 1811 metais, tačiau 1970-aisiais jis pradėtas laikyti Europos sodų hibridu, susidariusiu tarp *Thymus pulegioides* ir *Thymus vulgaris*. *T.* × *citriodorus* augalai – tai daugiamečiai, visžaliai, turintys plaukelius, stačiai augantys krūmai, kurie gali pasiekti

apie 30 cm aukštį. Citrininio čiobrelio lapai yra siauri, gali būti tiek ovalios, tiek lancetinės formos, paprastai žali, nors kai kuriuose šaltiniuose gali būti geltoni, žiedai – balti, rožiniai (3).



1 pav. Citrininis čiobrelis (*Thymus* × *citriodorus*) (asmeninis archyvas)

Žydėjimo laikotarpis prasideda birželį ir tęsiasi iki rugpjūčio pabaigos. *Thymus* × *citriodorus* geriausiai auga drenuotose dirvose, saulėtose vietose (3). Dėl savo malonaus citrinų kvapo ir skonio dažnai naudojamas kulinarijoje, o dėl ypatingos cheminės sudėties pasižymi antimikrobinėmis ir priešgrybelinėmis savybėmis, todėl tradiciškai buvo naudojamas bronchitui gydyti (19).

Dalis citrininio čiobrelio naudingų savybių priklauso nuo jo eterinio aliejaus sudėties. Pagrindinis eterinio aliejaus komponentas – geraniolis. Kiti svarbūs komponentai – nerolis, geranialas ir neralas. *T. x citriodorus* ekstraktuose gausu flavonoidų: katechino, luteolino darinių ir apigenino-7-β-O-glikuronido. Taip pat citrininio čiobrelio sudėtyje aptinkama ir fenolinių rūgščių, ypač rozmarino rūgšties, salvianolio rūgščių, litosperminės rūgšties A ir kafeino rūgšties (3).

1.3 Eteriniai aliejai, jų sudėtis

Eterinis aliejus yra sudėtingas lakiųjų, aromatingų junginių mišinys, besikaupiantis kai kurių rūšių augaluose, kaip antrinis metabolitas. Eteriniai aliejai gali būti išskirti iš augalinės matricos naudojant vandens, garų ar sausąją distiliaciją, o iš citrusinių vaisių – mechaniniu spaudimu. Eterinių aliejų svarba augalui yra nuolat tiriama, tačiau yra įrodymų, kad jie atlieka apsauginę funkciją ir yra signalų šaltinis. Sukaupiamo eterinio aliejaus kiekiai augaluose gali labai varijuoti, dažniausiai sudaro 1 – 3 % augalo masės (20). Gryname eteriniame aliejuje gali būti aptinkama daugiau nei 200 skirtingų cheminių junginių. Šie mišiniai dažniausiai yra sudaryti iš fenilpropaninių darinių arba terpenų. Eteriniai aliejai yra sudėtingi, lakūs, mažos molekulinės masės (<300 Da) organinių junginių mišiniai

(21). Pagal metabolinę kilmę eterinis aliejus laikomas antriniu augalo metabolitu, tai reiškia, kad jis nėra būtinas jį kaupiančio augalo gyvybei, tačiau turi svarbią funkciją augalo sąveikai su aplinka. Pagal biosintetines grupes eteriniai aliejai yra skirstomi į terpenoidus, šikimatus, poliketidus ir alkaloidus. Terpenoidai yra svarbiausia eterinių aliejų biosintetinė grupė, sudaryta iš izopreno (2-metilbutadieno). Visos terpenoidų struktūros sintezės pradžioje turi anglies atomų skaičių, kuris yra skaičiaus penki kartotinis. Pirmieji ištirti terpenoidai turėjo 10 anglies atomų – pavadinti monoterpenoidais (22).

1.4 Eterinių aliejų išskyrimo būdai

Tinkamo eterinio aliejaus išskyrimo metodo pasirinkimas priklauso nuo augalo rūšies ir kiekvienos rūšies augalui arba jo daliai gali būti rekomenduojamas skirtingas distiliacijos metodas (23).

1.4.1. Ekstrakcija tirpikliu

Ekstrakcijos tirpikliu metu eterinis aliejus iš augalinės žaliavos išgaunamas, naudojant pasirinktą tirpiklį. Gautas mišinys filtruojamas ir koncentruojamas distiliacijos metodu. Iš koncentrato eterinis aliejus išskiriamas pridedant gryną alkoholį ir jį išgarinant. Pagrindinis šio metodo trūkumas yra tirpiklio liekanos, kurios gali sukelti alergines reakcijas (21).

1.4.2. Enfleuražas

Tai senovinis eterinių aliejų išgavimo būdas iš žiedų. Šio proceso metu žiedlapiai dedami ant bekvapių riebalų. Riebalams absorbavus eterinius aliejus iš žiedlapių, naudojamas alkoholis. Galutinis grynas eterinis aliejus gaunamas išgarinus alkoholį. Šis metodas naudojamas aromatinių žiedų eteriniams aliejams išgauti, nes jį naudojant galima išsaugoti subtilų žiedų kvapą ir cheminę sudėtį, kuri gali būti pažeista naudojant kitus, agresyvesnius metodus (21).

1.4.3. CO₂ ekstrakcija

Tai yra ekologiškas ekstrakcijos metodas, dažniausiai atliekamas naudojant CO₂ kaip tirpiklį, esant kritiniam 73,8 bar slėgiui ir minimaliai 32,1 °C temperatūrai. CO₂ yra saugus tirpiklis, stabilus cheminiu požiūriu, ekonomiškai, plačiai prieinamas. Šio tirpiklio tirpumo savybės gali būti reguliuojamos keičiant slėgį bei temperatūrą, o tai padeda keisti skysčio tankį ir padidinti ekstrakcijos efektyvumą. CO₂ yra labai selektyvus ir ypač tinkamas termolabilių bioaktyvių junginių išgavimui (24).

1.4.4. Turbo distiliacijos ekstrakcija

Turbodistiliacija patentuota 1983 m. ir naudojama keliose pramoninėse įmonėse, norint išgauti eterinius aliejus iš kietų žaliavų (pvz.: medienos, žievės, sėklų, šaknų). Galimas tūris distiliavimui yra 1000 – 10000 litrų. Turbo distiliacijos ekstrakcijos procesas panašus į hidrodistiliaciją, tačiau turi

mechaninį maišytuvą, kuris smulkina kietus žaliavos gabalus, taip homogenizuodamas žaliavą. Šis procesas sutrumpina ekstrakcijos laiką, mažina energijos sąnaudas, atliekų kiekį ir geriau išsaugo lakiasias medžiagas. Šis metodas yra tinkamas tirti tik kietas medžiagas (25).

1.4.5. Garų distiliacija

Garų distiliacijos metu augalinė žaliava dedama ant grotelių virš verdančio vandens. Garai skverbiasi per augalą, kondensuojasi ir taip yra gaunamas eterinis aliejus ir vanduo. Kadangi eterinis aliejus yra lengvesnis už vandenį ir jame netirpsta, jo frakcija laikosi virš vandens ir gali būti lengvai nuo jo atskirta. Pagrindinis metodo trūkumai – aukšta temperatūra ir ilgas distiliacijos laikas, galintys sukelti eterinių aliejų komponentų cheminius pakitimus (26).

1.4.6. Hidrodistiliacija

Hidrodistiliacija – procesas, kai augalinė medžiaga yra kaitinama vandenyje, siekiant išskirti eterinį aliejų. Šis metodas plačiai naudojamas eterinių aliejų ekstrahavimui, nes yra paprastas, nenaudoja organinių tirpiklių. Pagrindiniai trūkumai – ilgas ekstrahavimo laikas, didelės distiliuoto vandens ir energijos sąnaudos, galimas cheminių komponentų skilimas ir hidrolizė dėl ilgo sąlyčio su verdančiu vandeniu (27).

1.5 Eteriniai aliejai ir *Thymus* gentis

Thymus gentis skirstoma į aštuonis skyrius, kurie yra klasifikuojami pagal morfologinius ir geografinius augalų požymius. Skirtingiems *Thymus* genties skyriams būdingi tam tikri chemotipai ir eterinių aliejų komponentai, kurie nulemia augalo eterinių aliejų biologinį aktyvumą ir savybes. Pavyzdžiui, *Micantes* skyriui būdingos rūšys, augančios Šiaurės Afrikoje, turi daug eterinio aliejaus, kurio sudėtyje gausu α -terpineolio, borneolio ar γ -terpineno. *Piperella* skyriaus rūšis (*Thymus piperella*), kilusi iš Ispanijos, pasižymi p-cimeno ir karvakrolio gausa. Kiti skyriai taip pat turi ryškią ir unikalią cheminę sudėtį, kuri gali priklausyti nuo regiono, kuriame auga bei tam tikrų genetinių ypatumų (14). *Thymus* genties augalai pasižymi didele fitocheminės sudėties įvairove, įskaitant platų spektrą lakiųjų junginių. Kiekvienoje *Thymus* genties rūšyje gali būti išskiriami skirtingi chemotipai – tai tos pačios rūšies augalų grupės, pasižyminčios reikšmingais tam tikrų cheminių junginių kiekių skirtumais. *Thymus* genties eterinių aliejų nustatomi keli pagrindiniai chemotipai, kuriuose vyrauja dideli kiekiai timolio, karvakrolio, 1,8-cineolio, borneolio, borneolio ir karvakrolio mišinių, citralio, linalolio, geraniolio (16).

1.6 *Thymus* × *citriodorus* eteriniai aliejai

Pagrindinis junginys, dažniausiai nustatomas *T. × citriodorus* eteriniuose aliejuose yra geraniolis. Geraniolis – tiesinės struktūros monoterpeninis alkoholis, kuris susiformuoja iš geranilpirofosfato. Skirtinguose tyrimuose, šio junginio santykinis kiekis šio hibrido eteriniame aliejuje gali kisti – nuo 4,3 % iki 83,3 %. Taip pat, reikšmingu *T. × citriodorus* komponentu laikomas nerolis (geraniolio *cis*-izomeras), kuris kombinacijoje su juo genetiškai ir struktūriškai giminingais aldehidais – geranialiu ir neraliu – vadinamas citraliu. Būtent šie aldehidai *T. × citriodorus* augalui suteikia citrininį skonį ir kvapą (3).

Iki 2018 metų šiam hibridiniam čiobreliui, be dažniausiai aptinkamo geraniolio chemotipo, buvo nustatyti dar keli galimi chemotipai – karvakrolis, borneolis ir terpinoleno. Tyrimas, atliktas Vengrijoje, parodė, kad *T. × citriodorus* eteriniame aliejuje karvakrolis buvo pagrindinis junginys, kuris sudaro net 43,5% visos eterinio aliejaus sudėties, o p-cimeno kiekis buvo apie 21,1%. Šis *T. × citriodorus* augalas buvo priskirtas karvakrolis chemotipui, kuris paprastai pasižymi stipriu, šiek tiek aštroku aromatu (28). Kituose regionuose buvo nustatyti kiti dominuojantys junginiai – pietrytinėje Turkijos dalyje *T. × citriodorus* eteriniame aliejuje vyravo terpinolenas ir α -terpineolis. Šių junginių dominavimas *T. × citriodorus* eteriniame aliejuje leido jį priskirti prie terpinoleno chemotipo (29). Kituose *T. × citriodorus* eterinio aliejaus sudėties tyrimuose pagrindiniais komponentais nustatyti junginiai yra borneolis ir timolis, kurie sudarė atitinkamai 28,82 % ir 14,43 % eterinio aliejaus. Šis augalas buvo priskirtas borneolio chemotipui, kuris pasižymi švelnesniu kvapu, lyginant su kitais *T. × citriodorus* chemotipais (30).

1.7 Distiliavimo trukmės įtaka eterinio aliejaus kiekiui ir sudėčiai

Distiliavimo trukmė gali keisti eterinio aliejaus kiekį ir sudėtį. Tyrime su pankoliu (*Foeniculum vulgare* Mill.) buvo nustatyta, kad distiliacijos trukmė reikšmingai veikė eterinio aliejaus kiekį ir cheminę sudėtį. Ilgesnė distiliavimo trukmė padidino eterinio aliejaus kiekį. Didžiausias eterinio aliejaus kiekis buvo gautas distiliuojant žaliavą 160 minučių. Augalo cheminė sudėtis taip pat kito priklausomai nuo distiliavimo trukmės. Kai kurių komponentų kiekis (pvz., trans-anetolio) didėjo ilgėjant distiliavimo trukmei, o kitų (pvz., fenchono, kamparo) – mažėjo (31).

Kitame tyrime buvo tiriama distiliavimo trukmės įtaka pipirmėtės eterinio aliejaus kiekiui. Per pirmąsias distiliavimo minutes eterinio aliejaus išeiga sparčiai didėjo, stabilizavosi po 20 minučių ir iki pat 160 minučių išliko nepakitusi. Vyraujančių komponentų, tokių kaip mentolis ir mentonas, kiekis nepasikeitė, tuo tarpu mentofurano didžiausias kiekis nustatytas esant 40–160 min distiliavimo

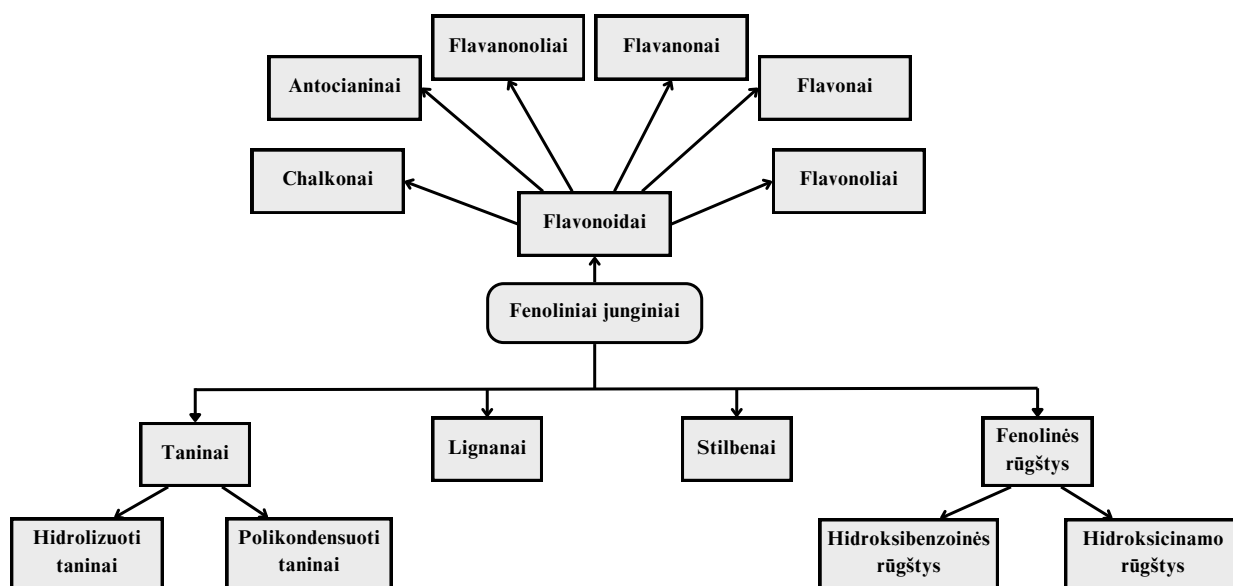
trukmei. Eukaliptolis išsiskyrė tuo, kad jo kiekis nuosekliai mažėjo nuo 10 % iki 3,7 % - didžiausi kiekiai buvo išgauti per pirmąsias distiliavimo minutes. Taigi, nustatyta, kad trumpesnė distiliacija lėmė didesnę eukaliptolio kiekį, o ilgesnė – didesnę eterinio aliejaus išėigą. Panašiai kaip ir pipirmėtės atveju, citrinžolės eterinio aliejaus išėiga ir sudėtis taip pat priklausė nuo distiliavimo trukmės, tačiau šios rūšys pasižymėjo savitais komponentų kiekio ir kokybinės sudėties pokyčiais. Citrinžolės eterinio aliejaus išėiga iš pradžių didėjo ir pasiekė maksimumą esant 20 minutei, toliau iki 160 minutės liko nepakitusi. Ilgesnė, 240 minučių, distiliacija sumažino eterinio aliejaus išėigą. Pagrindinių komponentų – nerolio ir geranio – kiekiai buvo mažiausia trumpiausios distiliacijos metu, didėjo nuo 5 iki 40 distiliavimo minutės, o vėliau mažėjo (32).

1.8 Distiliavimo trukmės įtaka *Thymus* × *citriodorus* eterinio aliejaus kiekiui ir sudėčiai

Thymus × *citriodorus* eterinio aliejaus distiliavimo skirtingais laikais tyrimo metu, nustatyta, kad didžiausia ir mažiausia citrininio čiobrelio eterinio aliejaus išėiga skyrėsi 2,7 karto. Mažiausia išėiga buvo nustatyta po 5 distiliavimo minučių, o didžiausia – po 150 minučių. Nors eterinio aliejaus išėiga didėjo viso distiliavimo laiko metu, tačiau nuo 30 – 100 distiliavimo minutės, ji reikšmingai nesiskyrė. Tyrimo metu identifikuoti 34 komponentai, sudarantys 91,9 – 99,7 % viso eterinio aliejaus. Rezultatai parodė, kad ilgesnė distiliavimo trukmė mažina monoterpenų, bet didina seskviterpenų procentinę dalį. Distiliavimo trukmė paveikė ir citrininio čiobrelio eterinio aliejaus pagrindinių komponentų – geraniolio, nerolio, geranio ir neralo – kiekius. Trumpiausia, 5 minučių distiliacija, pasižymėjo mažesniais geraniolio ir nerolio kiekiais, tuo tarpu neralo procentinė dalis buvo didžiausia būtent 5 minučių distiliacijos metu. Tyrimo metu nustatyta, kad optimali distiliavimo trukmė maksimaliai eterinio aliejaus išėigai iš citrininio čiobrelio yra trumpesnė nei kitų *Thymus* genties augalų: distiliacija trunkanti ilgiau nei 60 minučių *T. × citriodorus* eteriniam aliejui yra neveiksminga (5).

2. Fenoliniai junginiai

Fenoliniai junginiai yra svarbūs augalų antriniai metabolitai. Jie turi bent vieną aromatinį žiedą su viena ar daugiau prijungtų hidroksilo grupių. Struktūriškai fenoliniai junginiai apima daugiau nei 8000 molekulių ar jų darinių, kurie gali būti skirstomi į monomerus (įskaitant flavonoidus ir ne flavonoidus, arba paprastus fenolius ir stilbenus pagal jų molekulinę struktūrą (aromatinų žiedų skaičių ir jų jungtis) ir polimerus, paprastai vadinamus taninais, kurie gali būti skirstomi į hidrolizuotus taninus ir polikondensuotus taninus (33).



2 pav. Fenolinių junginių klasifikavimas

Pagal cheminę struktūrą fenoliniai junginiai klasifikuojami į fenolines rūgštis, flavonoidus, taninus, fenolinius lignanus ir fenolinius stilbenus. Fenoliniai junginiai turi dvi pagrindines struktūras: C6-C3-C6 žiedų struktūrą, kuri yra būdinga flavonoidams, tam tikroms fenolinėms rūgštims ir kondensuotiems taninams ir C6-C1 struktūrą, daugiausia apimančią kai kurias fenolines rūgštis ir hidrolizuojamus taninus. Flavonoidai yra pati įvairiausia fenolinių junginių grupė, glaudžiai susijusi su augalų žiedų spalvos formavimu ir turinti svarbią funkciją augalų sąveikoje su aplinka (pvz., apsauga nuo ultravioletinių spindulių, atsparumas ligoms) (34). Flavonoidai turi C6-C3-C6 struktūrinį skeletą, sudarytą iš dviejų aromatinių žiedų. Pagal C3 jungties vietą flavonoidai skirstomi į kelis pogrupius. Jei pirmas žiedas prie antrojo prijungtas 3 arba 4 pozicijoje, junginiai vadinami izoflavonais ir neoflavonoidais. Junginiai, kuriuose pirmas žiedas jungiasi 2 pozicijoje, gali būti skirstomi į dar kelis pogrupius pagal antrojo žiedo oksidacijos laipsnį ir funkcinės grupės ypatybes: flavonai, flavonoliai, flavanonai, flavanonoliai, antocianinai ir chalkonai. Flavonoidai yra pati įvairiausia fenolinių junginių grupė, kuri yra aptinkama visuose augalo audiniuose – lapuose, stiebuose, vaisiuose, žieduose ir šaknyse (33). Fenolinės rūgštys yra viena didžiausia fenolinių junginių klasė, gamtoje jos yra laisvos arba susijungusios su kitomis molekulėmis. Jos skirstomos į dvi grupes: hidroksibenzoinės rūgštys ir hidroksicinamo rūgštys, kurios tarpusavyje skiriasi struktūra. Kita gausi fenolinių junginių grupė yra taninai. Tai plačiai paplitę fenoliniai junginiai, randami grūduose, ankštiniuose augaluose ir ypač medžių žievėje. Jie turi didelę molekulinę masę ir gali sudaryti tirpius ir netirpius kompleksus su

baltymais. Taninai skirstomi į hidrolizuojamus taninus, kondensuotus taninus ir kompleksinius taninus. Kita fenolinių junginių klasė, natūraliai randama įvairiuose maisto produktuose, yra stilbenai. Pagrindinis stilbenų šaltinis yra žemės riešutai ir vynuogės. Pagrindinė stilbenų cheminė struktūra yra 1,2-difeniletilenas. Pastaruoju metu stilbenai sulaukia didelio mokslininkų dėmesio dėl priešūždeginio, antikancerogeninio, antidiabetinio ir antidislipideminio poveikio. Svarbiausias stilbenų grupės junginys yra resveratrolis, pasižymintis antioksidacinėmis savybėmis ir gebėjimu mažinti navikinių ląstelių atsparumą chemoterapijai. Lignanai yra didelė natūralių junginių grupė, susidaranti oksidacinės dviejų fenilpropano vienetų dimerizacijos būdu. Pastaraisiais metais tyrėjai daug dėmesio skyrė lignanų biologiniam aktyvumui, kuris turi antioksidacinį, priešnavikinį, priešūždegiminį ir antivirusinį poveikį (34).

2.1 Fenolinių junginių išskyrimas

Norint iš augalų išgauti biologiškai aktyvius fenolinius junginius, yra taikoma daugybė jų ekstrahavimo metodų ir technikų. Ekstrakcijos metodo ir tirpiklio pasirinkimas yra ypač svarbus žingsnis siekiant gauti ekstraktą su optimaliu natūralių junginių kiekiu (34).

2.1.1. Kietosios-skystosios fazės ekstrakcija

Tai paprasčiausias ir dažniausiai naudojamas fenolinių junginių išgavimo metodas. Įprastai kietosios-skystosios fazės ekstrakcijos procese naudojami įvairūs tirpikliai, tokie kaip metanolis, etanolis, acetonas arba šių tirpiklių vandeniniai mišiniai (35). Vis dėlto vis dar kyla abejonių, kuris tirpiklis yra tinkamiausias polifenolių ekstrakcijai. Pavyzdžiui nustatyta, kad acetonas yra efektyviausias tirpiklis išgaunant polifenolinius junginius iš kininių ličių žiedų, lyginant su metanoliu, vandeniu ir etanoliu (36). Naujausi tyrimai rodo, kad vandeniu skiesti organiniai tirpikliai labiau didina ekstrakcijos efektyvumą nei grynai organiniai tirpikliai. Mokslinėje literatūroje pabrėžiama, kad nėra vieno universalaus tirpiklio fenolinių junginių ekstrakcijai (37). Nors šis būdas paprastas ir lengvai taikomas, jis turi trūkumų, tokių kaip ilgas ekstrakcijos laikas, žemas efektyvumas, didelis pavojingų organinių tirpiklių naudojimas (34).

2.1.2. Ekstrakcija ultragarsu

Tai vienas efektyviausių ekstrakcijos metodų. Ekstrakcijos ultragarsu privalumai yra nedideli įrangos reikalavimai, paprasta eksploatacija, trumpesnis veikimo laikas, mažas tirpiklių sunaudojimas (34). Šis metodas pagrįstas garso bangų (20-100 kHz) sklidimu per skystą terpę, taip sukuriant kavitaciją (burbuliukų susidarymą ir jų staigų suirimą). Šis procesas didina masės pernašos greitį, užtikrina geresnį tirpiklio įsiskverbimą į ląstelines struktūras ir sukelia fizinius bei mechaninius

augalinės kilmės pokyčius (38). Nustatyta, kad ekstrakcija ultragarsu yra efektyviausias metodas išgaunant rozmarino rūgštį ir karnozinę rūgštį, lyginant su tradiciniais ekstrakcijos metodais. Šio metodo trūkumas – perteklinis hidroksilo radikalų susidarymas, galintis suardyti veikliuosius junginius (34).

2.1.3. Superkritinių skysčių ekstrakcija

Superkritinių skysčių ekstrakcija geba atlikti selektyvią ekstrakciją naudojant superkritinį tirpiklį. Superkritinis CO₂, etanas, butanas, pentanas, diazoto monoksidas, amoniakas, trifluormetanas ir vanduo yra dažniausiai naudojami superkritiniai skysčiai. Lyginant su kitais tradiciniais fenolinių junginių ekstrakcijos metodais, superkritinių skysčių ekstrakcija gali sunaudoti mažiau toksiškų organinių tirpiklių, sutrumpinti ekstrakcijos laiką, didinti proceso saugumą ir selektyvumą, apsaugoti mėginius nuo oksidacijos. Tačiau nedidelė bendra fenolinių junginių išeiga ir ribotos galimybės ekstrahuoti polinius veikliuosius junginius lemia ribotą šio metodo taikymą praktiškai (34).

2.1.4. Ekstrakcija mikrobangomis

Ekstrakcija mikrobangomis pagrįsta tiesioginiu mikrobangų spinduliuotės poveikiu, kuris skatina molekulių virpėjimą ir jų atsiskyrimą nuo mėginio, panardinto tirpiklyje. Pagrindiniai fizikiniai parametrai, turintys įtakos ekstrakcijai mikrobangomis yra mikrobangų galia, ekstrakcijos trukmė, tirpumas, dielektrinė konstanta ir tirpiklio savybės (34). Dahmoune naudojo šį metodą išgauti *Myrtus communis* L. fenoliniams junginiams. Jie nustatė, kad taninų ir bendrųjų flavonoidų, išgautų ekstrahuojant mikrobangomis, antioksidacinis aktyvumas, mikrobangų išgautuose ekstraktuose, yra didenis nei naudojant kitus ekstrakcijos metodus (39). Vienas iš šio metodo trūkumų – termiškai jautrių junginių irimas proceso metu (34).

2.2 Fenoliniai junginiai ir *Thymus* gentis

Manoma, kad *Thymus* genties augalai pasižymi antioksidaciniu, priešuždegiminiu, hipoglikeminiu, antimikrobiniu poveikiu. Nors šios savybės dažniausiai siejamos su eteriniais aliejais, šiuo metu *Thymus* augalų fenolinių junginių ekstraktai (gaunami naudojant polinius tirpiklius), tampa svarbiu objektu biologiškai aktyvių junginių paieškai (40). Moksliniame tyrime, kuriame buvo išsamiai tirti kelių *Thymus* rūšių fenoliniai junginiai, nustatyta, kad pagal šių augalų cheminę sudėtį, didžiausią jų dalį sudaro fenolinės rūgštys ir flavonoidai, kurių sudėtis ir kiekiai skyrėsi priklausomai nuo *Thymus* rūšies. Tyrime nustatyta, kad dominuojantis fenolinis junginys daugumoje tirtų *Thymus* rūšių yra rozmarino rūgštis. Didžiausi jos kiekiai aptikti tokiose *Thymus* rūšyse kaip *Thymus glabrescens*, *Thymus pannonicus*, *Thymus praecox*, *Thymus pulegioides* ir *Thymus serpyllum*. Be rozmarino

rūgštis, *Thymus* augaluose identifikuotos ir kitos fenolinės rūgštys, tokios kaip kavos rūgštis, chlorogeninė rūgštis, p-kumaro rūgštis bei ferulo rūgštis, kurios gali būti siejamos su augalo antioksidaciniu poveikiu. Flavonoidų frakcijoje nustatyti įvairių struktūrinių grupių junginiai, tokie kaip flavonai (apigeninas ir jo glikozidai), flavanonai (naringeninas, eriodiktiolis, dihidrokvercetas) ir flavonoliai (kvercetas, rutinas). Tyrimo rezultatai rodo, kad *Thymus* rūšių augalų fenolinių junginių sudėtis yra svarbus veiksnys, lemiantis augalo biologinį aktyvumą. Fenolinės rūgštys ir flavonoidai, ypač rozmarino rūgštis, yra glaudžiai siejami su augalo antioksidaciniu ir priešuždegiminiu poveikiu (41). Kitame tyrime, kuriame taip pat buvo tirti fenoliniai junginiai *Thymus* genties augaluose, chromatografinė analizė atskleidė, kad dominuojančios fenolinės rūgštys yra rozmarino rūgštis, salvianolio rūgštis, kofeino rūgštis, ferulo rūgštis, p-kumarino rūgštis ir cinamono rūgštis. Nustatyta, kad iš jų rozmarino rūgštis yra pagrindinis ir gausiausias junginys daugumoje *Thymus* rūšių. Kita svarbi fenolinė rūgštis yra salvianolio rūgštis, kurios dideli kiekiai aptikti *Thymus vulgaris* augaluose. Šis junginys žinomas dėl savo antioksidacinių, priešuždegiminių savybių. Bendras fenolinių junginių ir flavonoidų kiekis *Thymus* rūšyse taip pat labai skiriasi. Didžiausias bendras fenolių kiekis nustatytas *Thymus transcaspicus*, o didžiausias flavonoidų kiekis – *Thymus vulgaris* augaluose. Taigi, *Thymus* genties augalai yra reikšmingas fenolinių junginių šaltinis, gausus fenolinėmis rūgštimis ir flavonoidais, kurie lemia augalo antioksidacinį ir priešuždegiminį poveikį (42).

2.3 *Thymus* × *citriodorus* fenoliniai junginiai

Moksliniai tyrimai rodo, kad *T. × citriodorus* fenolinė sudėtis pasižymi didele įvairove. Pagrindinę fenolinių junginių dalį šiame hibride sudaro fenolinės rūgštys ir flavonoidai. Iš visų nustatytų junginių – rozmarino rūgštis yra dominuojanti rūgštis ir sudaro apie 50 – 55 % visų identifikuotų fenolinių junginių. Be rozmarino rūgšties, *T. × citriodorus* taip pat aptinkamos ir salvianolinės rūgštys, kurios pastaruoju metu laikomos ypatingai reikšmingomis dėl jų priešnavikinio poveikio. Flavonoidų frakcijoje identifikuojami luteolino, apigenino, eriodiktiolio ir chrizoeriolio dariniai. Šie flavonoidai prisideda prie oksidacinio streso mažinimo organizme (43). Kitame tyrime taip pat nustatyta, kad citrininiame čibrelyje vyrauja fenolinės rūgštys, iš kurių rozmarino rūgštis yra pagrindinis ir gausiausias junginys, ją lydi rozmarino rūgšties heksosidas ir litosperminė rūgštis A. Taip pat nustatyta, kad *T. × citriodorus* žaliavoje yra reikšminga flavonoidų frakcija, kuriai priklauso luteolino-7-O-gliukuronidas, apigenino-7-O-gliukuronidas, eriodiktiolio-O-gliukuronidas ir kvercetino-O-gliukuronidas. Bendras fenolinių junginių kiekis citrininiame čibrelyje buvo didelis, o fenolinės rūgštys sudarė didesnę dalį nei flavonoidai (19).

2.4 Distiliavimo trukmės įtaka fenolinių junginių kiekiui

Distiliavimo trukmė gali keisti fenolinių junginių kiekį. Tyrime su *Rosmarinus officinalis* L., naudojant aukšto efektyvumo skysčių chromatografiją, nustatyta, kad didėjant distiliavimo trukmei, vandenyje didėja tirpaus fenolinio junginio – rozmarino rūgšties kiekis. Žaliava buvo distiliuojama 30, 60, 150 ir 240 minučių. Žaliava po trumpiausio (30 min) distiliavimo pasižymėjo mažiausiu antioksidaciniu aktyvumu. Didžiausias rozmarino rūgšties kiekis buvo pasiektas žaliavą distiliavus 150 minučių. Po šio laiko antioksidacinis aktyvumas mažėjo, galimai dėl kai kurių antioksidacinių junginių terminio skilimo (44). Tyrime su *Cannabis sativa* L., žaliava buvo distiliuojama skirtingais laikais: 60, 120, 240, 360 ir 480 min., naudojant tris skirtingus metodus lakiajai frakcijai išgauti – hidrodistiliacija, garų distiliacija ir mikrobangine hidrodistiliacija. Skirtumai tarp šių metodų yra daugiausia susiję su šildymo būdų ir sąveika su žaliava. Hidrodistiliacijos metu, distiliuotas vanduo ir augalinė žaliava yra toje pačioje kolboje, todėl verdantis vanduo ir žaliava tiesiogiai kontaktuoja. Šio proceso metu, garuoja lakieji junginiai, bet ir intensyvėja hidrolizė bei oksidacijos reakcijos biomasėje. Po distiliavimo nustatyta, kad fenolinių junginių kiekiai kinta priklausomai nuo distiliavimo trukmės. Tyrimo rezultatai parodė, kad kai kurių fenolinių junginių kiekis nuo 60 – 120 distiliavimo minučių mažėjo, o vėliau ilgėjant distiliavimui – didėjo arba stabilizavosi. Tokie pokyčiai galėjo būti siejami su distiliavimo metu vykstančiomis reakcijomis (hidrolizė, oksidacija, terminis skilimas), kurios gali lemti fenolinių junginių skilimą arba naujų darinių susidarymą (45).

2.5 Tirpiklio įtaką fenolinių junginių ekstrakcijai

Tirpiklio pasirinkimas priklauso nuo žaliavos išgaunamų fenolinių junginių poliškumo, tačiau vis dažniau atsižvelgiama ir į kitus aspektus, tokius kaip toksiškumas, poveikis aplinkai, žaliavos prieinamumas, todėl dažniausiai renkamas vandenį, acetoną, metanolį ar etanolį (46). Acetonas yra vidutinio poliškumo organinis tirpiklis, todėl efektyvus ekstrahuojant fenolinius junginius ir taninus, tačiau didžiausias acetono efektyvumas pastebimas sudėtyje su vandeniu (47). Metanolis yra labai poliškas ir veiksmingas tirpiklis, naudojamas fenolinių junginių ekstrakcijai, tačiau pasižymi toksiškumu žmogui. Etanolis yra mažiau toksiškas lyginant su metanoliu, bei plačiai naudojamas fenolinių junginių ekstrakcijai, dažniausiai mišinyje su vandeniu. Vanduo yra polinis tirpiklis, galintis efektyviai ekstrahuoti hidrofilinius fenolinius junginius, tačiau efektyviausiai veikia mišiniuose su kitais organiniais tirpikliais (48). Bendras ekstrakto kiekis, bendras fenolinių junginių kiekis ir sudėtis jame priklauso nuo tirpiklio poliškumo, todėl pasirinkus tinkamą tirpiklį, galima optimizuoti fenolinių junginių kiekį (49).

1 lentelė. Metanolio, acetono ir etanolio cheminės struktūros ir poliškumo palyginimas

Tirpiklis	Metanolis	Acetonas	Etanolis
Tirpiklio cheminė struktūra	$\begin{array}{c} \text{H} \\ \\ \text{H}-\text{C}-\text{O}-\text{H} \\ \\ \text{H} \end{array}$	$\begin{array}{c} \text{H}^3\text{C} \quad \text{CH}^3 \\ \diagdown \quad / \\ \text{C} \\ \\ \text{O} \end{array}$	$\begin{array}{c} \text{H} \quad \text{H} \\ \quad \\ \text{H}-\text{C}-\text{C}-\text{O}-\text{H} \\ \quad \\ \text{H} \quad \text{H} \end{array}$
Molekulinė formulė	CH ₃ OH	C ₃ H ₆ O	C ₂ H ₆ O
Cheminė struktūra	Sudarytas iš hidroksilo (-OH) ir metilo grupės (-CH ₃)	Sudarytas iš karbonilo grupės (C=O) ir trijų angliavandenilių grandinės	Sudarytas iš hidroksilo grupės (-OH) ir alkilo grupės
Poliškumas	Labai polinis	Vidutinis poliškumas	Vidutinis poliškumas

2.5.1 Metanolis

Metanolis yra labai lakus, bespalvis ir degus tirpiklis, pasižymintis mažu tankiu. Dėl mažo molekulės dydžio ir vandenilinių ryšių metanolis yra labai reaktyvus, gali maišyti su daugeliu organinių ir neorganinių skysčių. Metanolio struktūrai būdinga metilo grupė, sujungta su hidroksilo grupe (1 lentelė). Metanolis labai gerai tirpsta vandenyje ir kituose poliniuose tirpikliuose, nes geba sudaryti vandenilinius ryšius dėl struktūroje esančios hidroksilo grupės. Metanolis gali greitai prasiskverbti pro membranas, tirpti gyvose ląstelėse ir pasklisti po visa organizmą, todėl gali būti itin pavojingas žmogui (50). M. Walasek-Janusz ir kiti (2025) tyrė *Thymus vulgaris* ir *Sideritis scardica* augalines žaliavas, ekstrakcijai naudojant acetoną, metanolį, 70 % etanolį ir etilo acetatą. Didžiausias *T. vulgaris* žaliavoje bendras fenolinių junginių kiekis buvo gautas, ekstrakcijai naudojant metanolį. Tuo tarpu, *S. scardica* žaliavoje – acetoną (51).

2.5.2 Acetonas

Acetono struktūrai būdinga centrinė karbonilo grupė ir trijų angliavandenilių grandinė (1 lentelė). Nuo šios struktūros priklauso acetono vidutinis poliškumas ir tirpumas vandenyje. Acetonas gerai tirpsta vandenyje dėl savo gebėjimo sudaryti vandenilinius ryšius su vandens molekulėmis (52). Nustatyta, kad acetono poliškumas, kuriam įtakos turi acetono koncentracija, yra svarbus fenolinių junginių ekstrakcijos efektyvumui. J. Boeing ir kiti (2014) tyrime, kuriame buvo tirti *Morus nigra*, *Rubus ulmifolius*, *Fragaria* × *ananassa* uogų fenoliniai junginiai, nustatyta, kad ekstrakcijai naudotas grynas acetonas buvo mažiausiai efektyvus tirpiklis. Acetono efektyvumas padidėjo mišinyje su vandeniu. Didžiausias bendras fenolinių junginių kiekis šilkmedžiuose ir gervuogėse buvo gautas ekstrakcijai naudojant 70 % acetoną ir vandens mišinį (53).

2.5.3 Etanolis

Etanolis yra organinis tirpiklis, pasižymintis amfifilinėmis savybėmis. Etanolio struktūrai būdinga hidroksilo grupė (polinė dalis) ir alkilo grandinė (nepolinė dalis) (1 lentelė). Hidroksilo grupė geba sudaryti vandenilinius ryšius su kitomis vandens ar alkoholio molekulėmis, bei lemia etanolio tirpumą vandenyje (54). N. Yanchev ir kiti (2022) tyrime su *S. scardica* žaliava nustatė, kaip skirtingi tirpikliai veikia bendrą fenolinių junginių kiekį ir augalo antioksidacinį aktyvumą. Tyrime buvo naudoti tokie tirpikliai: vanduo, acetonas, etanolio-vandens mišiniai (20 %, 50 %, ir 70 % etanolio). Ekstrakcijai buvo taikomi skirtingi metodai – užpylimas, maceracija. Tyrime žaliavą ekstrahuojant 70 % etanoliniu tirpalu buvo gautas didžiausias bendras fenolinių junginių kiekis. Didžiausia ekstrakcijos išeiga buvo pasiekta naudojant 50 % ir 70 % etanolį (55). Zazouli ir kiti (2016) tyrė *Caralluma* šaknų ekstraktų cheminę sudėtį, naudojant didėjančio poliškumo tirpiklius (heksaną, chloroformą, dichlormetaną, etilo acetatą, acetoną, etanolį ir metanolį). Tyrimo metu buvo nustatyti reikšmingi skirtumai tarp minėtų tirpiklių ir gauto bendro fenolinių junginių kiekio. Nustatytas bendras fenolinių junginių kiekis buvo žymiai didesnis metanolio ekstrakto, lyginant su mažiau poliniais tirpikliais (etanolis, acetonas). Tuo tarpu, didžiausias bendras flavonoidų kiekis nustatytas etanolio frakcijose (56).

2. TYRIMO METODIKA

2.1 Tyrimo objektas

Šio tyrimo objektas – citrininis čiobrelis (*T. × citriodorus*) (3 pav). Augalas augintas Valstybiniame mokslinių tyrimų institute Gamtos tyrimų centre. Tyrime naudota antžeminė augalo dalis (stiebai, lapai, žiedai) nupjauta augalo žydėjimo metu. Žaliava buvo džiovinama kambario temperatūroje (20 – 25 °C). Orasausė žaliava svėrė 1229 g ir buvo laikyta popierinėse pakuotėse kambario temperatūroje, uždaroje, gerai vėdinamoje patalpoje be tiesioginių saulės spindulių.



3 pav. Sudžiovinta *Thymus × citriodorus* žaliava (asmeninis archyvas)

2.2 Naudota aparatūra

1. Laboratorinės svarstyklės („Axis AD50“, Lenkija)
2. Analitinės svarstyklės („Axis AD50“, Lenkija)
3. Elektrinis smulkintuvas-malūnas („Grindomix GM 2000“, Vokietija)
4. Džiovinimo spinta („Memmert UN55“, Vokietija)
5. Spektrofotometras („Biochrom libra S32 PC“, Jungtinė Karalystė)
6. Automatinės pipetės („Eppendorf Research“, Vokietija)
7. Kaitinimo krosnelė („Mammert UN55“, Vokietija)
8. Šaldytuvas-šaldiklis („Whirlpool“, JAV)

9. Vandens aušintuvas
10. Klevengerio tipo hidrodistiliavimo aparatas
11. Purtyklė

2.3 Reagentai

1. Folin-Ciocalteu reagentas („Sigma-Aldrich“, Šveicarija)
2. Natrio karbonatas („Sigma-Aldrich“, Vokietija)
3. Galo rūgštis („Sigma-Aldrich“, Vokietija)
4. Metanolis („Sigma-Aldrich“, Prancūzija)
5. Acetonas („Sigma-Aldrich“, Vokietija)
6. Etanolis („Vilniaus degtinė“, Lietuva)
7. Distiliuotas vanduo

2.5 Eterinio aliejaus išskyrimas ir kiekybinis nustatymas

Eteriniai aliejai iš *T. × citriodorus* žaliavos išskirti naudojant Klevengerio tipo aparatą hidrodistiliacijos metodu. Kiekvienam distiliavimui naudota 25 g citrininio čiobrelis nedeodoruota ir nemalta žaliava.

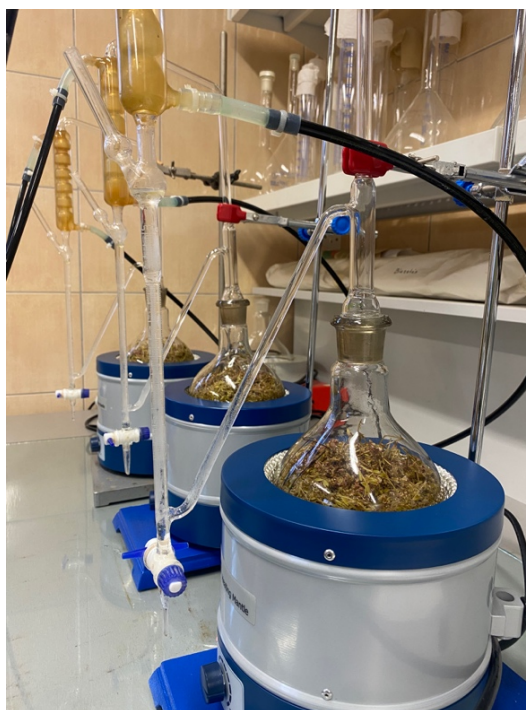
Elektroninėmis svarstyklėmis pasverta žaliava buvo suberta į 1000 ml apvaliadugnę kolbą ir pripildyta 500 ml distiliuoto vandens, apsemiant ir sudrėkinant visą mėginį. Paruošta kolba įstatyta į elektrinį kaitintuvą ir sujungta su Klevengerio tipo distiliacijos aparatu. Prieš pradedant distiliavimą, į graduotą eterinio aliejaus surinktuvo dalį buvo įpiltas distiliuotas vanduo. Tuomet įjungtas vandens cirkuliavimas per kondensatorių bei nustatytas kolbos kaitinimas lizdiniu kaitintuvu. Distiliacijos pradžia fiksuota, kai iš kolbos pradėjo kilti garai pasiekę eterinio aliejaus surinktuvo dalį, žyminti pastovaus kondensato kaupimosi pradžią. Žaliava buvo distiliuojama skirtingais laiko intervalais – 5, 10, 15, 20, 25, 30, 40, 50, 60, 80, 100, 120 minučių, kiekvienam laiko taškui atliekant po 3 pakartojimus. Pasibaigus distiliavimui, graduotoje surinktuvo dalyje išmatuotas gauto eterinio aliejaus kiekis, suskaičiuojant mažąsias padalas (1 maža padala = 0,02 ml). Eterinis aliejus buvo išleidžiamas iš surinktuvo į stiklinį buteliuką, uždarytas ir papildomai sandarinamas parafilm sandarinimo plėvele.

2.6 Vandeningų *Thymus × citriodorus* tirpalų ekstrahavimas

Skirtingos distiliavimo trukmės vandeniniai *T. × citriodorus* tirpalai ir dezodoruota *T. × citriodorus* žaliava buvo gauta ekstrahavimo metodu, naudojant Klevengerio tipo

aparata. Kiekvienam distiliavimui buvo naudota 25 g *T. × citriodorus* sudžiovintos, nemaltos žaliavos ir užpilta 500 distiliuoto vandens, taip kad apsemtų ir sudrėkintų visą žaliavą.

Vandeninio ekstrakto ir dezodoruotos žaliavos atskyrimas. Baigus distiliuoti, vandeninis *T. × citriodorus* ekstraktas ir dezodoruota augalinė žaliava buvo atskirta naudojant koštuvą. Gautas vandeninis ekstraktas supilstytas į sandarius, tamsaus stiklo buteliukus. Likusi dezodoruota žaliava buvo išimta iš apvaliadugnės kolbos ir džiovinama džiovinimo spintoje kontroliuojamoje temperatūroje 48 h. Vandeniniai ekstraktai buvo laikomi šaldiklyje – 24 °C temperatūroje iki tolimesnių tyrimų. Orasausė dezodoruota žaliava buvo laikoma popierinėse pakuotėse kambario temperatūroje, neturint kontakto su tiesioginiais saulės spinduliais.



4 pav. Citrinio čibrelio distiliavimas Klevengerio tipo aparatūra (asmeninis archyvas)

2.7. Metanolinio, etanolinio ir acetoninio *Thymus × citriodorus* ekstrakto paruošimas

Išdžiovinta dezodoruota žaliava buvo sumalta elektroniniu smulkintuvu. Kiekvienas žaliavos mėginys buvo smulkinamas tomis pačiomis sąlygomis – 10 sekundžių 1000 kartų/min greičiu. Elektroninėmis svarstyklėmis buvo pasvertas 1 g tiriamos žaliavos ir subertas į kūginės formos kolbutę. Tada žaliava buvo užpilama 15 ml 70 % metanolio, 70 % etanolio ar 70 % acetono tirpalu, priklausomai nuo to, koks ekstraktas (metanolinis, etanolinis ar acetoninis) buvo ruošiamas. Ekstraktas buvo ekstrahuojamas purtyklėje 30 minučių. Po ekstrahavimo, kūginės kolbutės turinys buvo filtruojamas pro popieriaus filtrą į 25 ml tūrio matavimo kolbutę. Likusios nuosėdos iš kūginės

kolbutės buvo praplautos 5 ml 70 % metanolio, 70 % etanolio ar 70 % acetono tirpalu ir filtruojamos pro tą patį popieriaus filtrą į tą pačią 25 ml matavimo kolbutę. Tada 25 ml matavimo kolbutės turinys buvo skiedžiamas iki žymos 70 % metanolio, 70 % etanolio ar 70 % acetono tirpalu, priklausomai nuo to, koks tirpalas buvo ruošiamas. Taip buvo gautas 25 ml tiriamosios augalinės žaliavos metanolinis, etanolinis ar acetoninis ekstraktas.



5 pav. Metanolinio, acetoninio ir etanolinio *Thymus × citriodorus* ekstrakto ruošimas (asmeninis archyvas)

2.8 Drėgmės kiekio ir sausosios medžiagos kiekio nustatymas augalinėje žaliavoje

Kiekvienos tiriamos žaliavos analizei buvo naudoti 3 mėginiai po 2 g žaliavos. Drėgmės kiekio nustatymui buvo paruošti švarūs, iškaitinti, pasverti ir sunumeruoti stikliniai biuksai. Tada 1 mg tikslumu buvo pasverta augalinė žaliava ir sudėta į atskirus stiklinius biuksus. Žaliava buvo kaitinama 4 h, 104 °C temperatūros kaitinimo krosnyje. Iškaitinus biuksus su žaliava, jie buvo įdėti į eksikatorių atvėsti iki kambario temperatūros. Kiekvienas biuksas su žaliava buvo pasveriamas 1 mg tikslumu. Drėgmės kiekis, išreikštas procentais buvo apskaičiuojamas pagal formulę:

$$W = \frac{(W1 - (W2 - Wb))}{W1} \times 100$$

Formulėje W – analizuojamos žaliavos drėgmė (%), W1 – analizuojamos žaliavos mėginio masė prieš kaitinimą (g), W2 – ataušusio uždengto biukso su žaliavos mėginiu masė po kaitinimo (g), Wb – tuščio

biukso su dangteliu masė (g). Naudojant trijų bandymų duomenis, buvo skaičiuojamas drėgmės kiekio žaliavoje aritmetinis vidurkis.

2.9 Bendro fenolinių junginių kiekio nustatymas

Atliekant fenolinių junginių kiekio nustatymą *T. × citriodorus* žaliavoje buvo remtasi Folin-Ciocalteu kolimetriniu metodu. Šis metodas pagrįstas fenolinių junginių reakcija su Folin-Ciocalteu reagentu, susidarant spalvotiems kompleksams. Spalvų intensyvumas matuojamas spektrofotometriškai, o suminis fenolinių junginių kiekis apskaičiuojamas pagal galo rūgšties koncentracijas, naudojant gautas kalibracines kreives (6 pav.).

Bendro fenolinių junginių kiekio nustatymas. Į 100 ml matavimo kolbą įpilamas 1 ml gauto dezodoruotos žaliavos ekstrakto. Vandeninis ekstraktas buvo perfiltruotas, naudojant popierinį filtra, skiedžiamas 14 kartų ir tada taip pat įpilamas 1 ml skiesto vandeninio ekstrakto. Tada į kolbą buvo įpilama 60 ml distiliuoto vandens ir 5 ml Folin-Ciocalteu reagento. Kolba buvo lengvai suplakama keletą kartų ir paliekama nusistovėti 8 minutėms. Praėjus šiam laiko tarpui, į kolbą buvo įpilama 15 ml pagaminto natrio karbonato tirpalo ir iki žymės buvo pripilama distiliuoto vandens. Kolba suplakama ir paliekama stovėti tamsoje 20 minučių. Praėjus nurodytam laikui, spektrofotometru matuojamas tiriamosios augalinės žaliavos spalvinio tirpalo optinis tankis, palyginamojo tirpalo atžvilgiu, naudojant 1 cm kiuvetes ir 765 nm bangos ilgį.

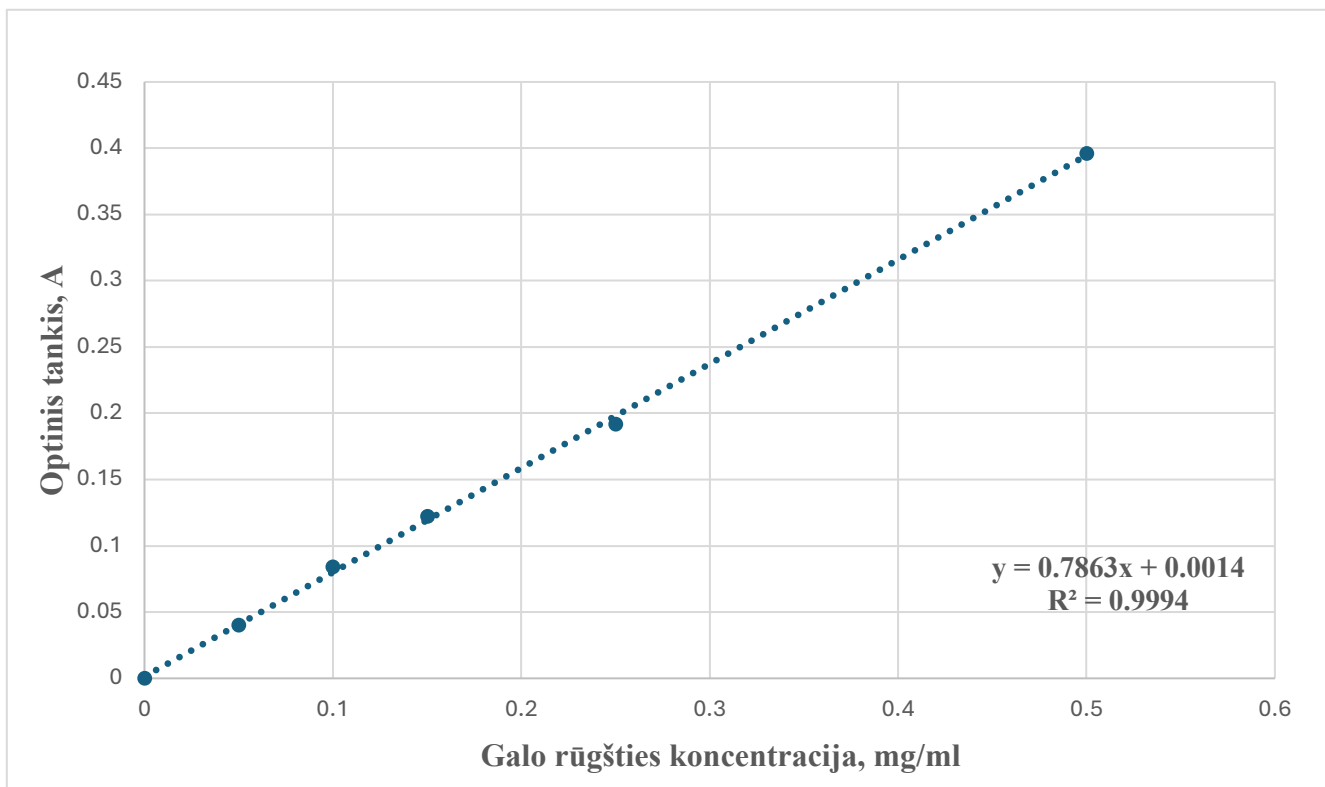
Palyginimui naudotas galo rūgšties etanolinis tirpalas, kuris buvo paruoštas sumaišius 60 ml distiliuoto vandens, 5 ml Folin-Ciocalteu reagent (paliktas stovėti 8 minutėms), 15 ml natrio karbonatu ir iki žymos distiliuotu vandeniu (paliktas stovėti tamsoje 20 minučių).

Kalibracinė kreivė (6 pav.) buvo sudaryta naudojant pradinį 5 g/l galo rūgšties tirpalą. Iš pradinio tirpalo buvo paruošti 5 skirtingų koncentracijų etanoliniai galo rūgšties tirpalai – 0,05 mg/ml, 0,1 mg/ml, 0,5 mg/ml, 0,25 mg/ml ir 0,5 mg/ml. Žinant tiriamojo spalvinio tirpalo optinį tankį, pagal gautą galo rūgšties kalibracinės kreivės lygtį, buvo apskaičiuotas bendras fenolinių junginių, išreikštų galo rūgšties ekvivalentais, kiekis (mg/ml) augalinės žaliavos ekstrakto.

Bendras fenolinių junginių kiekis augalinėje žaliavoje buvo apskaičiuotas ir išreikštas galo rūgšties ekvivalentais (mg GRE/ml) pagal formulę:

$$F = \frac{c \times V}{m}$$

kai, c – galo rūgšties koncentracija, nustatyta pagal kalibracinę kreivę (mg/ml); V – pagaminto tiriamojo augalinės žaliavos ekstrakto tūris (ml); m – ekstrakcijai naudotos sumaltos augalinės žaliavos masė (g).



6 pav. Kalibracinė kreivė fenolinių junginių kiekiui apskaičiuoti, naudojant standartinį galo rūgšties tirpalą

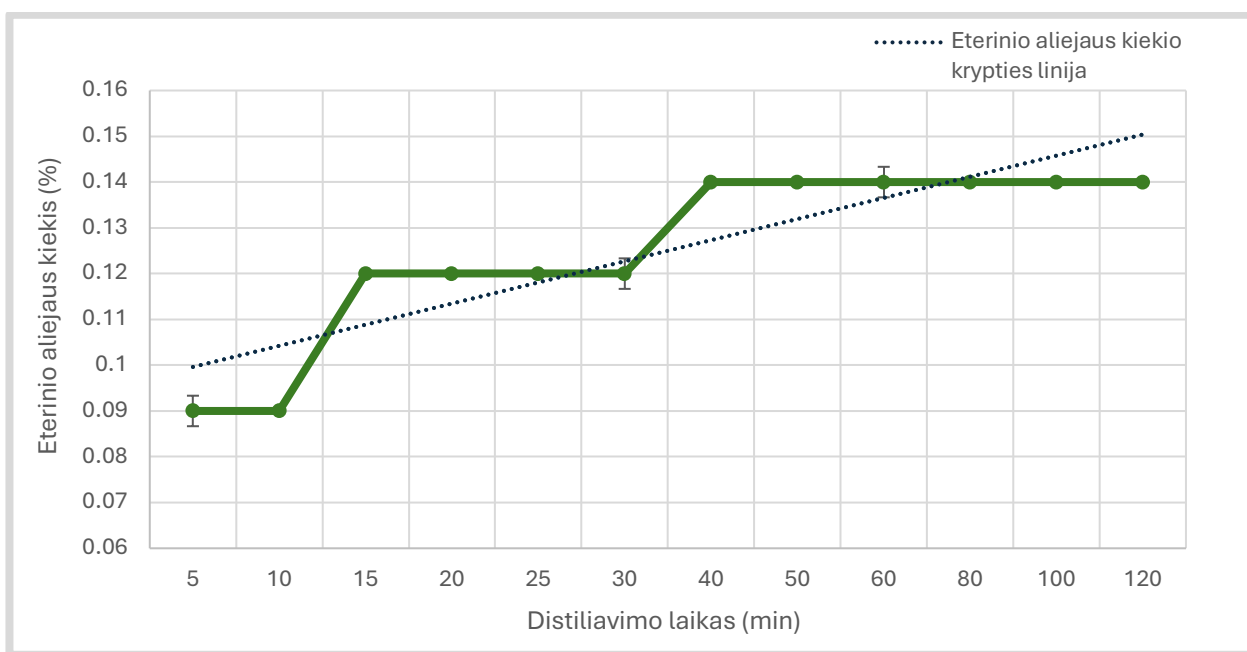
3. Statistinė analizė

Gauti duomenys buvo statistiškai apdorojami „Microsoft Office Excel 2025“ ir „STATISTICA® 7“ programomis. „Microsoft Office Excel 2025“ programa buvo apskaičiuoti aritmetiniai vidurkiai, standartiniai nuokrypiai, nubraižyti grafikai. „STATISTICA® 7“ programa buvo naudojama Kruskal-Wallis testui atlikti, kad būtų patikrinta ar patikimai skyrėsi: 1) eterinio aliejaus kiekiai tarp skirtingų distiliavimo trukmių, 2) fenolinių junginių kiekiai tarp skirtingą laiką dezodoruotų ir skirtingais tirpikliais ekstrahuotų žaliavų, 3) fenolinių junginių kiekiai nedeodoruotoje žaliavoje, ją ekstrahuojant skirtingais tirpikliais, 4) fenolinių junginių kiekiai vandeniniuose ekstraktuose, gautuose skirtingą laiką distiliuojant žaliavą. Nustatyti duomenų koreliacijai naudota Spirmeno koreliacinė analizė. Statistiškai vertinant duomenis naudotas reikšmingumo lygmuo $\alpha=0,05$.

3. REZULTATAI IR REZULTATŲ APTARIMAS

3.1 *Thymus* × *citriodorus* eterinio aliejaus kiekio priklausomybė nuo distiliavimo trukmės

7 paveiksle pateikiama eterinio aliejaus kiekio (%) priklausomybė nuo *T. × citriodorus* žaliavos distiliavimo trukmės. Paveiksle matyti, kad ilgėjant distiliavimo trukmei, eterinio aliejaus kiekis palaipsniui didėjo iki optimalios distiliavimo trukmės, o Spirmeno koreliacinė analizė parodė reikšmingai patikimą teigiamą koreliacinį ryšį tarp distiliavimo trukmės ir išdistiliuojamo eterinio aliejaus kiekio ($r_s = 0,92$, $p < 0,05$).



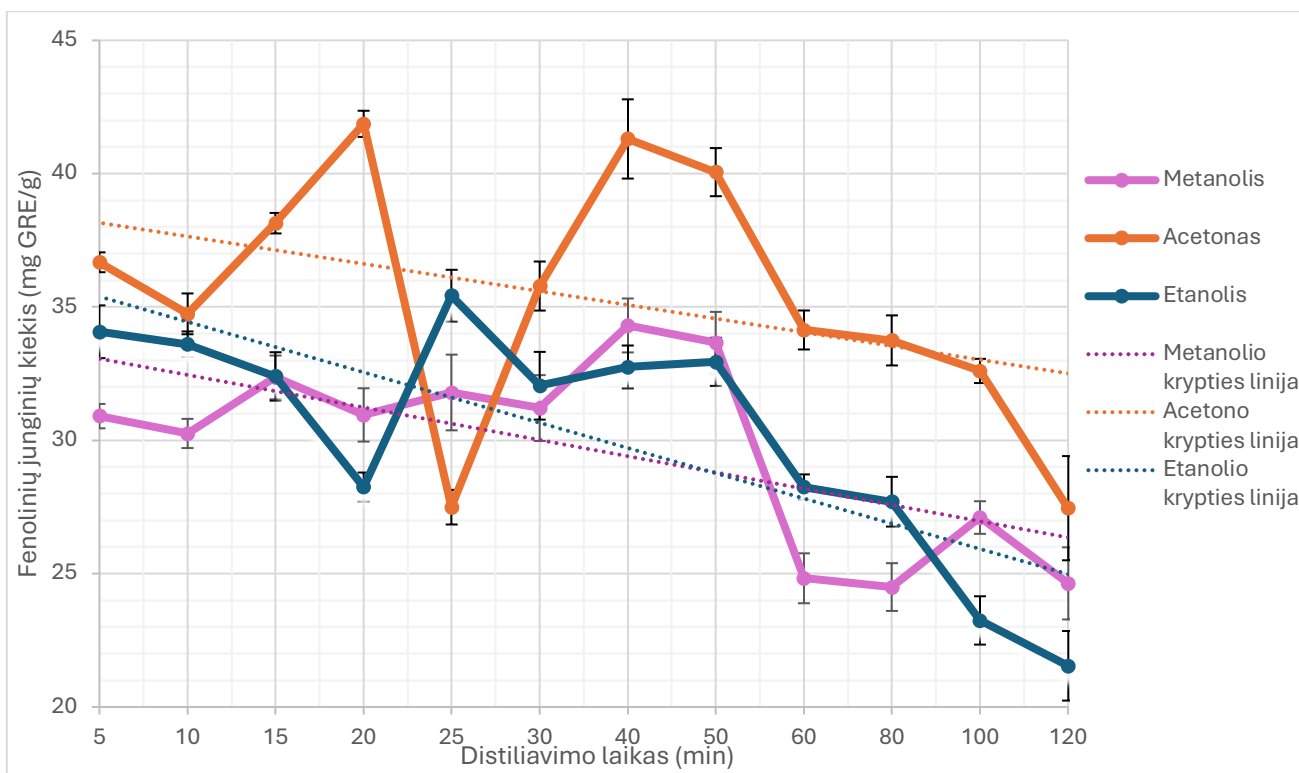
7 pav. *Thymus* × *citriodorus* eterinio aliejaus kiekio (vidurkis ± standartinė paklaida) priklausomybė nuo distiliavimo trukmės

Mažiausias ir didžiausias išdistiliuoto eterinio aliejaus kiekis skyrėsi 1,6 karto: mažiausia jo išeiga ($0,35 \pm 0,02$ %) buvo nustatyta distiliuojant žaliavą 5 minutes, o didžiausia ($0,57 \pm 0,02$ %) – distiliuojant 40 minučių; tačiau Kruskal-Wallis testas parodė, kad šie eterinio aliejaus kiekiai statistiškai patikimai nesiskyrė. Analizuojant iš žaliavos išdistiliuojamo eterinio aliejaus kiekio priklausomybės nuo distiliavimo laiko dinamiką, per pirmąsias 20 distiliavimo minučių buvo fiksuotas didžiausias eterinio aliejaus kiekio didėjimas – nuo 0,09 ml iki 0,12 ml. Esant distiliavimo trukmei daugiau nei 20 minučių, buvo stebimas lėtesnis, tačiau vis dar nuoseklus eterinio aliejaus kiekio didėjimas. Distiliuojant žaliavą 40 – 120 minučių, eterinio aliejaus kiekis stabilizavosi ir išliko ties 0,14 ml riba. Todėl galima teigti, kad didžioji dalis išgaunamų lakiųjų junginių išsiskyrė per pirmąsias 40 distiliavimo minučių. Šie duomenys rodo, kad ilgesnė distiliavimo trukmė (daugiau nei 40 minučių) yra

neefektyvus – papildomas kaitinimas nebedidino eterinio aliejaus išeigos, o tik reikalavo didesnių energijos sąnaudų. T. Zagorcheva ir kiti (2013) tyrime pastebėtas toks pats dėsningumas tiriant tikrosios levandos (*Lavandula angustifolia*), priklausančios tai pačiai notrelinių šeimai, eterinio aliejaus kiekio priklausomybę nuo distiliavimo trukmės (57). Panašus tyrimas buvo atliktas R. Jurevičiūtė ir kiti (2018) tyrime su *T. × citriodorus* augalu. Žaliava buvo distiliuojama 5, 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40, 45, 50, 55, 60, 70, 80, 90, 100, 110, 120 ir 150 minučių. Kiekvienam distiliavimui buvo naudota 30 g išdžiovintos *T. × citriodorus* žaliavos. Rezultatuose nurodoma, kad maksimalus eterinio aliejaus kiekis išdistiliuojamas per pirmąsias 30 – 60 minučių, o ilgesnė distiliavimo trukmė eterinio aliejaus išeigos statistiškai reikšmingai nebedidina (5). Nors Europos farmakopėjos standartai nurodo, kad *Thymus* rūšių žaliava turėtų būti distiliuojama 2 valandas (58). Gauti rezultatai rodo, kad didžiausiai *T. × citriodorus* eterinių aliejų išeigai pasiekti, pakanka daug trumpesnės distiliavimo trukmės.

3.2 Bendro fenolinių junginių kiekio dezodoruotoje žaliavoje priklausomybė nuo distiliavimo trukmės, palyginimas su nedezodoruota žaliava

8 paveiksle pateikiama fenolinių junginių, ekstrahuojamų iš dezodoruotos *T. × citriodorus* žaliavos trimis skirtingais tirpikliais – metanoliu, acetonu ir etanoliu, bendro kiekio (mg GRE/g) priklausomybė nuo žaliavos distiliavimo trukmės. Paveiksle galima matyti, kad, nepriklausomai nuo ekstrakcijos metu naudoto tirpiklio, ilgėjant distiliavimo trukmei fenolinių junginių kiekiai dezodoruotose žaliavose tendencingai mažėjo. Spirmeno koreliacinė analizė parodė, kad fenolinių junginių kiekiai, ekstrahuoti su visais tirtais tirpikliais iš dezodoruotos žaliavos, neigiamai koreliavo su distiliavimo trukme, o tarp etanoliu išekstrahuoto fenolinių junginių kiekio ir distiliavimo trukmės šis ryšys buvo statistiškai reikšmingas ($r_s = -0,76$, $p < 0,05$).



8 pav. Bendro fenolinių junginių kiekio (vidurkis $\pm$ standartinė paklaida) dezodoruotoje *Thymus* $\times$ *citriodorus* žaliavoje priklausomybė nuo distiliavimo trukmės, ekstrakcijai naudojant metanolį, acetoną ir etanolį.

Ekstrahuojant dezodoruotas *T. $\times$ citriodorus* žaliavas metanolio, mažiausias ir didžiausias bendras fenolinių junginių kiekis jose skyrėsi 1,4 karto: mažiausias šių junginių kiekis ($24,4 \pm 0,9$ mg GRE/g) nustatytas dezodoruotoje žaliavoje, gautoje po 80 minučių distiliavimo, o didžiausias ($34,3 \pm 1$ mg GRE/g) – po 40 minučių distiliavimo; tačiau Kruskal-Wallis testas parodė, kad šie fenolinių junginių kiekiai statistškai patikimai nesiskyrė. Ekstrahuojant dezodoruotas *T. $\times$ citriodorus* žaliavas acetonu, mažiausias ir didžiausias bendras fenolinių junginių kiekis skyrėsi apie 1,5 karto, ir didžiausias fenolinių junginių kiekis, gautas distiliuojant 20 minučių ($41,9 \pm 0,5$ mg GRE/g), statistškai patikimai skyrėsi nuo fenolinių junginių kiekio, nustatyto distiliuojant žaliavą 25 minučių ($27,5 \pm 0,65$ mg GRE/g) ir 120 minučių ($27,5 \pm 2$ mg GRE/g). Ekstrahuojant dezodoruotas *T. $\times$ citriodorus* žaliavas etanolio, bendro fenolinių junginių kiekio pokyčiai buvo ryškiausi, o mažiausia ($21,5 \pm 1,3$ mg GRE/g po 120 minučių distiliavimo) ir didžiausia ($35,4 \pm 1$ mg GRE/g po 25 minučių distiliavimo) vertės skyrėsi apie 1,7 karto ir jos statistškai patikimai skyrėsi.

Analizuojant bendro fenolinių junginių kiekio dezodoruotose *T. $\times$ citriodorus* žaliavose priklausomybę nuo distiliavimo trukmės, matyti, kad bendras fenolinių junginių kiekis kito netolygiai

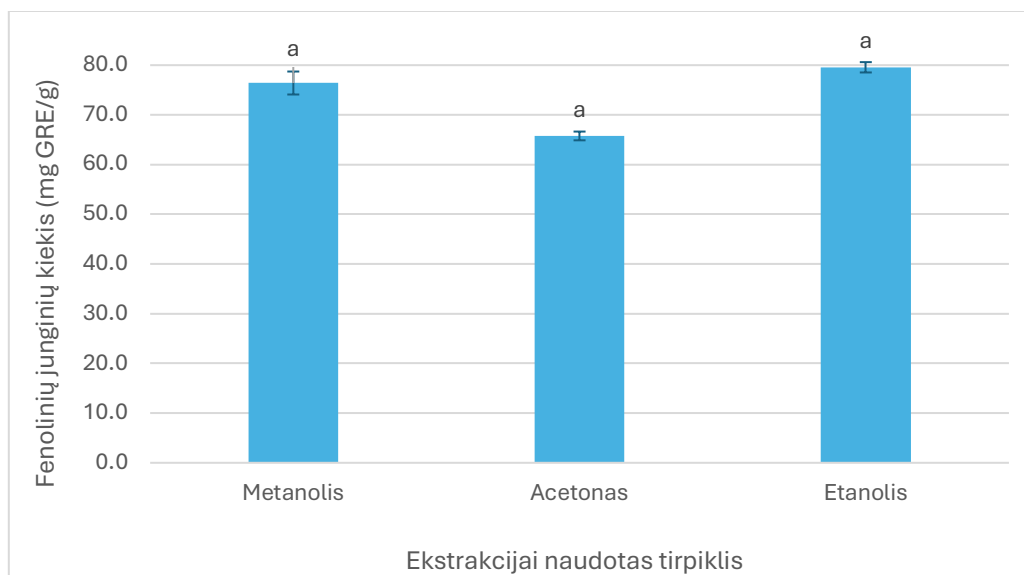
viso distiliavimo metu. Visų tirpiklių atvejais didžiausi fenolinių junginių kiekiai buvo nustatyti dezodoruotose žaliavose, gautose trumpesnio distiliavimo trukmės metu (15 – 50 min), o ilgėjant distiliavimo trukmei (ypač distiliuojant 80 – 120 minučių), bendras fenolinių junginių kiekis mažėjo, ypač etanolio ekstraktuose (8 pav.). Remiantis A. Antony ir kt. (2022) literatūrine apžvalga, galima teigti, kad fenoliniai junginiai yra šilumai jautrios molekulės, todėl aukšta temperatūra gali lemti fenolinių junginių terminę degradaciją, kuri pasireiškia sumažėjusiu bendru fenolinių junginių kiekiu. Šioje apžvalgoje taip pat minima apie kaitinimo trukmės įtaką fenolinių junginių stabilumui. Ilgesnė kaitinimo trukmė gali lemti didesnę fenolinių junginių kontaktą su šviesa ir deguonimi, o tai gali sukelti fenolinių junginių oksidaciją ir degradaciją (59).

8 paveiksle matyti, kad ilgesnė distiliavimo trukmė nėra palanki bendro fenolinių junginių kiekio stabilumui dezodoruotoje žaliavoje. Po optimalaus, 40 minučių žaliavos distiliavimo, fenolinių junginių kiekiai mažėjo. S. Berktaş ir M. Cam (2021) atliko tyrimą, kuriame buvo vertinamos pipirmetės (*Mentha piperita* L.) po distiliavimo likusios dezodoruotos žaliavos savybės, dėmesį skiriant bendram fenolinių junginių kiekiui ir jų kitimui priklausomai nuo distiliavimo trukmės. Bendras fenolinių junginių kiekis dezodoruotoje žaliavoje buvo vertinamas po 60 ir 120 distiliavimo minučių, nustatymui naudojant Folin-Ciocalteu metodą. Po žaliavos distiliavimo buvo naudojamas tirpiklis etanolis ekstraktams gauti. Ekstrahuojant dezodoruotą *M. piperita* žaliavą etanoliu, nustatytas bendras fenolinių junginių kiekis žaliavoje, gautoje po 60 minučių distiliavimo, siekė 231 ± 16 mg GAE/100 g, po 120 distiliavimo minučių – 228 ± 19 mg GAE/100 g. Lyginant bendrą fenolinių junginių kiekį 60 ir 120 minučių dezodoruotoje žaliavoje matyti, kad kiekis sumažėjo nežymiai – apie 1,3 %. Rezultatuose nurodoma, kad ilgesnė distiliavimo trukmė (120 min.), bendro fenolinių junginių kiekio statistiškai reikšmingai nebedidino, todėl yra neefektyvi (60). Šiame tyrime su *T. × citriodorus*, ekstrahuojant dezodoruotą žaliavą etanoliu (gautą po 60 minučių distiliavimo) nustatytas bendras fenolinių junginių kiekis buvo $28,2 \pm 0,5$ mg GRE/g, tuo tarpu 120 min – $21,5 \pm 2,3$ mg GRE/g. Lyginant gautus rezultatus po 60 ir 120 distiliavimo minučių, nustatyta, kad bendras fenolinių junginių kiekis dezodoruotoje žaliavoje sumažėjo apie 23,8 % (8 pav.). 8 paveiksle pateikti rezultatai rodo, kad ilgesnė distiliavimo trukmė gali būti ne tik neefektyvi, bet ir sumažinti bendrą fenolinių junginių kiekį. Šis pokytis gali būti siejamas su terminiu junginių skilimu, žaliavai ilgesnį laiką kontaktuojant su verdančiu vandeniu, šviesa ir deguonimi.

Taip pat pastebėta, kad skirtingi tirpikliai pasižymėjo nevienodu fenolinių junginių išgavimo iš dezodoruotų žaliavų efektyvumu. Nepriklausomai nuo distiliavimo trukmės, daugiausiai fenolinių junginių išekstrahavo acetonas ($35,3 \pm 4,73$ mg GRE/g) ($n = 12$); šiuo tirpikliu iš 5, 60 ir 80 minučių

distiliuotos dezodoruotos žaliavos išekstrahuotų fenolinių junginių kiekiai statistiškai patikimai ($p < 0,05$) skyrėsi nuo jų kiekio išekstrahuoto metanolio, o taip pat acetonu iš 20, 25 ir 100 minučių distiliuotos dezodoruotos žaliavos išekstrahuotų fenolinių junginių kiekiai statistiškai patikimai ($p < 0,05$) skyrėsi nuo jų kiekio išekstrahuoto etanolio. Tuo tarpu, vidutiniai fenolinių junginių kiekiai, išekstrahuoti su metanolio ir etanolio (atitinkamai $29,7 \pm 3,5$ mg GRE/g ir $30,2 \pm 4,4$ mg GRE/g ($n = 12$), nepriklausomai nuo distiliavimo trukmės) buvo artimesni vienas kitam. J. Dai ir R. Mumper (2010) teigia, kad fenolinių junginių tirpumas priklauso nuo tirpiklio poliškumo ir fenolinių junginių molekulinės masės, nes didelės molekulinės masės fenoliniai junginiai yra mažiau tirpūs poliniuose tirpikliuose, geriau tirpsta vidutinio poliškumo tirpikliuose. Autoriai pabrėžia, kad didesnės molekulinės masės flavanoliai ir ir kiti polimeriniai fenoliai yra efektyviau išekstrahuojami naudojant vandeninį acetoną nei metanolį, todėl 70 % acetonas gali duoti didesnę bendrą fenolinių junginių kiekį (61).

8 paveiksle pateikti rezultatai rodo, kad iš dezodoruotos žaliavos išekstrahuotam bendram fenolinių junginių kiekiui įtakos turėjo ne tik distiliavimo trukmė, bet ir ekstrakcijai naudotas tirpiklis. Lyginant tirpiklius, matyti, kad iš dezodoruotų žaliavų geriausiai fenolinius junginius ekstrahavo acetonas, o metanolis ir etanolis pasižymėjo panašiu ekstrahavimo efektyvumu.



9 pav. Bendras fenolinių junginių kiekis (vidurkis $\pm$ standartinė paklaida) nedezodoruotoje *Thymus $\times$ citriodorus* žaliavoje, ekstrahuojant metanolio, acetonu ir etanolio. Vienodos ir skirtingos raidės virš stulpelių rodo atitinkamai statistiškai nereikšmingai ar reikšmingai skiriasi fenolinių junginių kiekiai.

9 paveiksle pateikti duomenys rodo, kad ekstrahuojant fenolinius junginius iš nedeodoruotos *T. × citriodorus* žaliavos, įtakos turi ekstrakcijai naudojamas tirpiklis. Ekstrahuojant nedeodoruotas *T. × citriodorus* žaliavas etanoliu, nustatytas didžiausias bendras fenolinių junginių kiekis, kuris siekė $79,6 \pm 1,0$ mg GRE/g. Ekstrahuojant nedeodoruotas *T. × citriodorus* žaliavas metanoliu, fiksuotas bendras fenolinių junginių kiekis buvo apie 4 % mažesnis nei žaliavą ekstrahuojant etanoliu. Acetonas pasižymėjo mažiausiu efektyvumu ekstrahuojant nedeodoruotas *T. × citriodorus* žaliavas. Tačiau fenolinių junginių kiekiai, gauti ekstrakcijai naudojant metanolį, acetoną ir etanolį, statistiškai reikšmingai nesiskyrė. Walasek-Janusz ir kiti (2025) tyrė skirtingų tirpiklių poveikį fenolinių junginių ekstrahavimui iš nedeodoruotos *Thymus vulgaris* L. antžeminės dalies. Džiovinta ir susmulkinta žaliava buvo ekstrahuojama metanoliu, acetonu ir etanoliu, o bendras fenolinių junginių kiekis nustatytas Folin-Ciocalteu metodu. Tyrimo rezultatai parodė, kad didžiausias fenolinių junginių kiekis nustatytas ekstrakcijai naudojant metanolį, mažesnės vertės – acetoną, o mažiausi fenolinių junginių kiekiai nustatyti ekstrakcijai naudojant etanolį. Autoriai nurodė, kad metanolis dėl didesnio poliškumo ir gebėjimo sudaryti vandeninius ryšius efektyviau išekstrahavo fenolines rūgštis ir kitus polinius fenolinius junginius, kurie *T. vulgaris* žaliavoje sudaro reikšmingą fenolinių junginių profilį. Tuo tarpu acetono mažesnis efektyvumas buvo aiškinamas mažesniu jo poliškumu lyginant su metanoliu, todėl acetonas yra mažiau tinkamas polinių fenolinių junginių ekstrahavimui. Autoriai pažymėjo, kad acetonu išekstrahuoti junginiai sudarė siauresnį fenolinių junginių spektrą, todėl bendras fenolinių junginių kiekis buvo mažesnis, lyginant su metanolio ekstraktais (51). Tuo tarpu mūsų tyrime nustatyta, kad efektyviausias tirpiklis buvo etanolis. Skirtingi tirpiklių efektyvumo rezultatai gali būti paaiškinami tuo, kad *T. × citriodorus* žaliavoje gali dominuoti vidutinio poliškumo fenoliniai junginiai. I. Aouam (2019) tyrime buvo analizuojama *Thymus riatarum* sudžiovinta, antžeminė žaliava. Ekstraktai buvo paruošti maceracijos būdu, naudojant skirtingus tirpiklius – vandenį, metanolį, etanolį ir etilacetatą. 10 g augalinės žaliavos buvo išekstrahuojamos 100 ml atitinkamu tirpikliu 48 h, po to ekstraktai buvo nufiltruojami ir tirpiklis pašalintas vakuume naudojant rotacinį garintuvą. Rezultatuose nustatyta, kad didžiausias bendras fenolinių junginių kiekis gautas etanoliniame ekstrakte ($135,8 \pm 1,6$ mg GAE/g). Apie 1,2 karto mažesnė reikšmė buvo nustatyta metanoliniame ekstrakte ($113,2 \pm 1,5$ mg GAE/g). Rezultatai rodė, kad etanolis yra efektyviausias tirpiklis *T. riatarum* fenoliniams junginiams išgauti, metanolis pasižymėjo panašiu efektyvumu, o likę tirpikliai buvo neefektyvūs. Autoriai šiuos skirtumus siejo su skirtingu tirpiklio poliškumu, fenolinių junginių skirtinguose tirpikliuose (62). Minėtame tyrime gautus rezultatus lyginant su 9 pav. pateiktais rezultatais, matyti, kad abiejuose tyrimuose efektyviausias tirpiklis, išekstrahavęs didžiausią fenolinių junginių kiekį, buvo etanolis. Tyrime su *T. riatarum* žaliava nustatyta, kad etanolis išekstrahavo apie 20 % daugiau fenolinių junginių nei

metanolis. Tuo tarpu, mūsų darbe etanolis buvo tik apie 4 % efektyvesnis nei metanolis, ekstrahuojant *T. × citriodorus* fenolinius junginius.

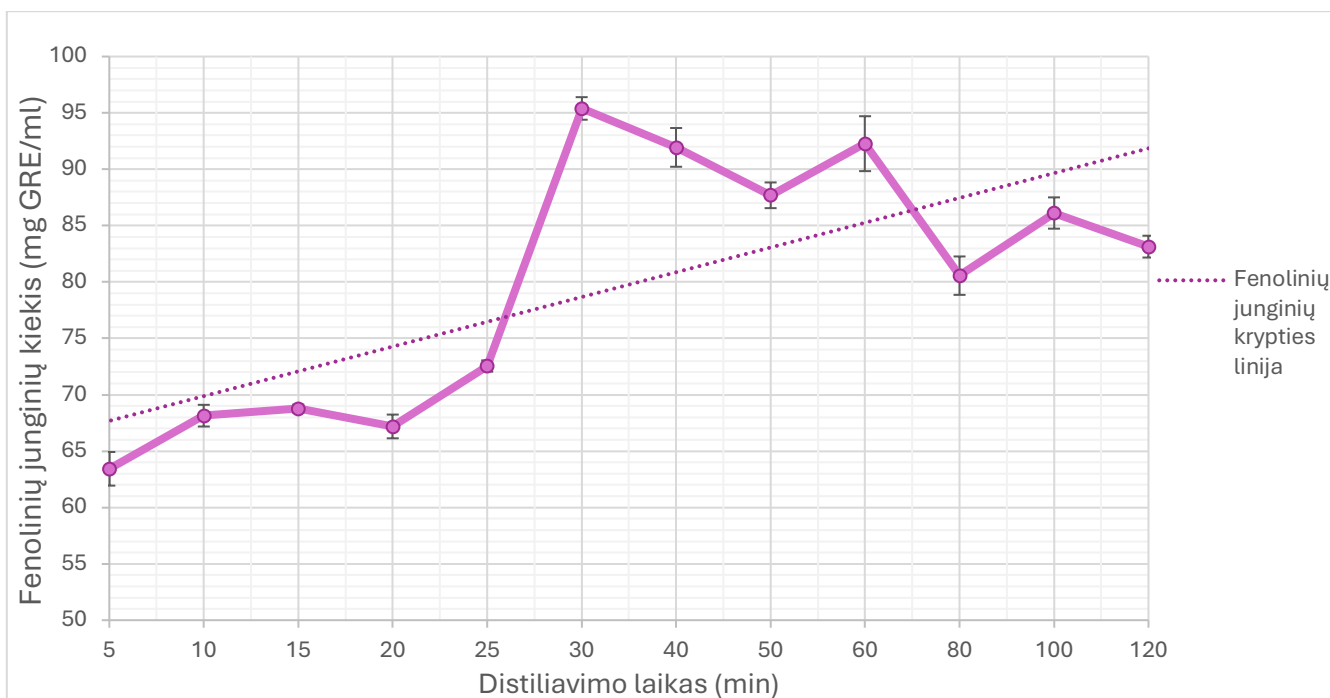
Bendras nedezodoruotos *T. × citriodorus* žaliavos fenolinių junginių kiekio vidurkis, nepriklausomai nuo naudoto tirpiklio, siekė $73,9 \pm 6,7$ mg GRE/g, ($n = 9$). Panašus tyrimas buvo atliktas Skendi ir kt. (2017), kuriame buvo analizuojami *Lamiaceae* šeimai priklausantys aromatiniai augalai, įskaitant *Thymus capitatus*. Minėtame tyrime buvo naudojama nedezodoruota, žydėjimo metu surinkta antžeminė augalų dalis, kuri po džiovinimo ir smulkinimo buvo ekstrahuojama 70 % vandeniniu metanoliu. Bendras fenolinių junginių kiekis nustatytas Folin-Ciocalteau metodu, o gauti rezultatai pateikti mg GAE/g sausos žaliavos pagrindu. Autoriai nustatė, kad *T. capitatus* žaliavoje bendras fenolinių junginių kiekis siekė $38,2 \pm 2,0$ mg GAE/g, ir tai buvo mažesnė bendro fenolinių junginių kiekio vertė lyginant su kitais tirtais *Lamiaceae* šeimos augalais (63). Lyginant su Skendi ir kt. (2017) nustatytu *Thymus capitatus* bendru fenolinių junginių kiekiu, šiame darbe gautas *T. × citriodorus* bendras fenolinių junginių kiekis buvo beveik dvigubai didesnis. S. Luca (2023) tyrė *Thymus vulgaris* L. fenolinius junginius. Tyrime buvo tirtos 3 žaliavos frakcijos: po distiliavimo likusi žaliava, po distiliavimo likęs vandeninis ekstraktas ir nedezodoruota žaliava. *T. vulgaris* ekstraktui iš nedezodoruotos žaliavos paruošti buvo naudota 10 g džiovintos ir sumaltos augalinės žaliavos, kuri nebuvo apdorota distiliavimo būdu. Sudžiovinta žaliava buvo ekstrahuojama naudojant metanolio ir vandens mišinį santykiu 75:25 (v/v). Ekstrahavimas atliktas ultragarsiniu būdu, taikant tris kartus po 30 minučių, kiekvieną kartą naudojant po 100 ml tirpiklio. Ekstraktas buvo filtruojamas, o filtratai vėliau išgarinti vakuume iki sausumo, gaunant sausą ekstraktą. Tyrime nustatyta, kad *Thymus vulgaris* bendras fenolinių junginių kiekis priklausė nuo žaliavos apdorojimo tipo – nedezodoruota, dezodoruota. Bendras fenolinių junginių kiekis *T. vulgaris* nedezodoruotoje žaliavoje siekė $65,3 \pm 0,9$ mg GAE/g ekstrakto (64). Lyginant 9 pav. gautus metanolinio ekstrakto rezultatus ($76,4 \pm 2,3$ mg GRE/g) su literatūroje pateiktais rezultatais, nustatyta, kad šiame tyrime gautas bendro fenolinių junginių kiekio rezultatas yra apie 17 % didesnis. Šie skirtumai gali būti siejami su skirtinga augalų rūšimi bei skirtingais ekstrakcijos metodais. Panašus tyrimas su *T. vulgaris* L. buvo atliktas M. Nateqi (2018). Ekstraktai buvo paruošti naudojant skirtingus tirpiklius – metanolį, etanolio mišinį (75:25) ir vandenį. Augalinė žaliava buvo ekstrahuojama atitinkamu tirpalu, taikant maceracijos ir maišymo metodą. Tirpiklis pašalintas naudojant rotacinį garintuvą. Didžiausias bendras fenolinių junginių kiekis buvo gautas naudojant metanolį – apie 70,6 mg GAE/g, kiti tirpikliai pasižymėjo mažesniu efektyvumu (65). Lyginant minėtoje literatūroje gautą rezultatą su 9 pav. gautu metanolinio ekstrakto bendru

fenolinių junginių kiekiu, nustatyta, kad *T. vulgaris* bendras fenolinių junginių kiekis yra apie 8 % mažesnis.

Lyginant 8 pav. ir 9 pav. tarpusavyje, matyti, kad bendras fenolinių junginių kiekis priklauso nuo pasirinkto tirpiklio fenolinių junginių ekstrahavimui ir žaliavos apdorojimo (dezodoruota, nedeodoruota). 8 paveiksle matyti, kad didžiausi fenolinių junginių kiekiai dezodoruotose žaliavose buvo nustatyti ekstrakcijai naudojant acetoną – vidutinis fenolinių junginių kiekis ($35,3 \pm 1,5$ mg GRE/g), žaliavą ekstrahuojant acetonu buvo apie 16,9 % didesnis nei etanolio ($30,2 \pm 1,5$ mg GRE/g), o skirtumas tarp etanolio ir metanolio ($29,7 \pm 1,7$ mg GRE/g) siekė apie 1,7 %. Tuo tarpu, etanolio ekstrahuotų fenolinių junginių kiekis ($79,6 \pm 1,8$ mg GRE/g) buvo apie 4,2 % didesnis nei metanolio ($76,4 \pm 4$ mg GRE/g) ir apie 21 % didesnis nei acetonu ($65,8 \pm 1,5$ mg GRE/g). Šis skirtumas rodo didesnę etanolio efektyvumą, ekstrahuojant nedeodoruotą žaliavą (9 pav.). Šiuos fenolinių junginių ekstrakcijos skirtumus galėjo lemti žaliavos apdorojimas, kadangi distiliavimo metu žaliava veikiamą aukšta temperatūra, kuri gali keisti augalinės medžiagos struktūrą ir cheminę sudėtį. Tai patvirtina literatūros duomenys: S. Berktaş ir M. Cam (2021) nurodo, kad distiliavimas daro reikšmingą poveikį bendram fenolinių junginių kiekiui ir jų pasiskirstymui augalinėje matricoje. Nustatyta, kad distiliavimo proceso metu bendras fenolinių junginių kiekis mažėja didėjant distiliavimo trukmei, o šis mažėjimas gali būti siejamas su terminė apkrova. Be to, po distiliacijos likusioje dezodoruotoje žaliavoje keičiasi fenolinių junginių cheminis pobūdis ir jų poliškumas, todėl skirtingi tirpikliai pasižymi nevienodu ekstrakcijos efektyvumu (60). K. Ložienė ir kiti (2007) tyrimuose su *Thymus pulegioides* žaliava nustatė, kad po distiliavimo bendras fenolinių junginių kiekis dezodoruotoje žaliavoje sumažėjo daugiau nei du kartus, tai buvo siejama su lakiųjų fenolinių junginių (tokių kaip timolis ir karvakrolis) pašalinimu iš augalinės žaliavos distiliavimo proceso metu. Be to, chromatografinė analizė parodė, kad distiliavimo metu kinta žaliavos cheminė sudėtis ir poliškumas, todėl iš dezodoruotos žaliavos efektyviau ekstrahuojami poliniai junginiai (10). Tai galėtų paaiškinti didesnę etanolio efektyvumą lyginant su acetonu nedeodoruotoje žaliavoje.

3.3 Bendro fenolinių junginių kiekio vandeniniame *Thymus* × *citriodorus* ekstrakte priklausomybė nuo distiliavimo trukmės

10 paveiksle pateikiama vandeninio *T. × citriodorus* ekstrakto bendro fenolinių junginių kiekio (mg GRE/g) priklausomybė nuo žaliavos distiliavimo trukmės. Paveiksle matyti, kad ilgėjant distiliavimo trukmei fenolinių junginių kiekiai vandeniniuose ekstraktuose didėjo, o taip pat nustatytas ir statistškai patikimas teigiamas Spirmeno koreliacijos koeficientas tarp distiliavimo trukmės ir bendro fenolinių junginių kiekio vandeniniame ekstrakte ($r_s = 0,63$, $p = 0,05$).



10 pav. Bendro fenolinių junginių kiekio (vidurkis $\pm$ standartinė paklaida) *Thymus* $\times$ *citriodorus* vandeniniame ekstrakte priklausomybė nuo distiliavimo trukmės

Tiriant vandeninius *T. x citriodorus* ekstraktus, gautus kaip šalutinį produktą eterinio aliejaus distiliavimo metu, nustatyta, kad mažiausias ir didžiausias bendras fenolinių junginių kiekis juose skyrėsi 1,5 karto (mažiausias šių junginių kiekis ($63,4 \pm 1,5$ mg GRE/ml) nustatytas vandeniniame ekstrakte, gautame po 5 minučių distiliavimo, o didžiausias ($95,4 \pm 1$ mg GRE/ml) – po 30 minučių žaliavos distiliavimo) ir šis skirtumas buvo statistiškai reikšmingas ($p < 0,05$).

Analizuojant bendro fenolinių junginių kiekio *T. x citriodorus* vandeniniuose ekstraktuose priklausomybę nuo distiliavimo trukmės nustatyta, kad jis kito netolygiai. Distiliavimo trukmę ilginant iki 30 minučių, bendras fenolinių junginių kiekis didėjo ir didžiausias ($95,4 \pm 1$ mg GRE/ml) nustatytas žaliavą distiliavus 30 minučių, o toliau didėjant distiliavimo trukmei, bendras fenolinių junginių kiekis palaipsniui mažėjo. Toks fenolinių junginių kiekio kitimas, priklausomai nuo distiliavimo trukmės, gali būti paaiškinamas remiantis I. Psarrou ir kt. (2020) pateiktu fenolinių junginių ekstrakcijos kinetikos modeliu. Minėtame tyrime naudotas rozmarinas (*Rosmarinus officinalis*) prieš tolimesnius tyrimus buvo 6 valandas distiliuojamas vandens-garų metodu, siekiant pašalinti eterinį aliejų. Po distiliavimo likusi žaliava buvo naudojama fenolinių junginių ekstrakcijos kinetikai tirti, ją ekstrahuojant tirpikliu ir imant skystus mėginius skirtingais ekstrakcijos laiko momentais. Autoriai nustatė, kad fenolinių junginių išsiskyrimas iš augalinės žaliavos vyksta pagal dviejų stadijų difuzijos modelį. Pradiniame etape galima stebėti staigų fenolinių junginių išsiskyrimą, o vėliau jų ekstrakcijos greitis mažėja, kol

galiausiai pasiekia pusiausvyrą (66). Tai leidžia daryti prielaidą, kad šiame darbe su *T. × citriodorus* žaliava analizuojamas bendro fenolinių junginių kiekio padidėjimas gali būti susijęs su spartesniu vandenyje lengvai tirpių junginių perėjimu į vandeninį ekstraktą, o vėlesnis mažėjimas – su ekstrakcijos greičio letėjimu bei galimu terminiu fenolinių junginių skilimu ilgėjant distiliavimo trukmei. Taip pat, S. Berktaş ir M. Cam (2021) tyrime su *Mentha piperita* L., žaliavą distiliavo 30, 60, 90, 120, 150, 180, 210 ir 240 minučių, Klevengerio tipo aparatu. Po distiliavimo buvo gauti vandeniniai *M. piperita* ekstraktai ir dezodoruotos augalinės žaliavos. Vandeniniai ekstraktai buvo nufiltruojami ir laikomi šaldiklyje iki tolimesnių tyrimų. Tyrimo rezultatai nurodo, kad distiliavimo trukmė turi įtakos bendram fenolinių junginių kiekiui vandeniniuose ekstraktuose. Didžiausias bendras fenolinių junginių kiekis (125 mg GAE/ml) vandeniniame ekstrakte buvo gautas žaliavą distiliuojant 30 minučių, tolimesnio distiliavimo metu, bendras fenolinių junginių kiekis mažėjo. Tyrime bendro fenolinių junginių kiekio mažėjimas *M. piperita* vandeniniuose ekstraktuose, ilgėjant distiliavimo trukmei, buvo siejamas su terminiu fenolinių junginių skilimu. Tyrime bendras fenolinių junginių kiekis nuo 30 iki 120 distiliavimo minučių sumažėjo apie 15,3 % (60). Tuo tarpu šiame darbe, fenolinių junginių kiekis nuo 30 iki 120 distiliavimo minučių sumažėjo apie 12,8 % (10 pav.).

Po ilgiausio distiliavimo (120 min.) vandeniniame *T. × citriodorus* ekstrakte, bendras fenolinių junginių kiekis buvo $118,8 \pm 2,4$ mg GRE/g (kiekis buvo perskaičiuotas iš mg GRE/ml į mg GRE/g) (10 pav.). Panašus tyrimas buvo atliktas S. Luca (2023), kuriame buvo tirtas *Thymus vulgaris* L. bendras fenolinių junginių kiekis. 50 g žaliavos buvo distiliuojama 4 valandas, Klevengerio tipo aparatu. Bendras fenolinių junginių kiekis *T. vulgaris* vandeniniame ekstrakte, gautame po 4 valandų distiliavimo, buvo $88,7 \pm 0,5$ mg GAE/g (64). Lyginant, šiuos rezultatus tarpusavyje, matyti, kad šiame tyrime su *T. × citriodorus* žaliava nustatytas bendras fenolinių junginių kiekis vandeniniame ekstrakte yra 34 % didesnis. Mažesnis bendras fenolinių junginių kiekis *T. vulgaris* vandeniniame ekstrakte rodo, kad ilgesnė distiliacija gali lemti didesnę fenolinių junginių skilimą. Taip pat, bendro fenolinių junginių kiekio, gauto mūsų tyrimo metu ir aukščiau minėtų autorių, skirtumai gali būti susiję ir su skirtingomis tiriamų augalų rūšimis, bei jų chemine sudėtimi.

4. IŠVADOS

1. Išdistiliuojamo *T. × citriodorus* eterinio aliejaus kiekis didėjo ilgėjant distiliavimo trukmei, o tarp šių kintamųjų nustatytas statistiškai reikšmingas teigiamas koreliacinis ryšys ($r_s = 0,92$, $p < 0,05$).

Didžiausias eterinio aliejaus kiekis išskirtas žaliavą distiliuojant 40 minučių ($0,57 \pm 0,02$ %); ilgesnis distiliavimas (50 – 120 minučių) buvo nebeefektyvus ir eterinio aliejaus išeigos nebedidino.

2. Nedezodoruotoje *T. × citriodorus* žaliavoje bendras fenolinių junginių kiekis, nepriklausomai nuo ekstrakcijai naudoto tirpiklio, vidutiniškai sudarė $73,9 \pm 6,7$ mg GRE/g, tuo tarpu dezodoruotose žaliavose šie kiekiai buvo 1,5 – 3,8 kartų mažesni. Nedezodoruotoje žaliavoje didžiausias fenolinių junginių kiekis nustatytas ekstrakcijai naudojant etanolį ($79,6 \pm 1,0$ mg GRE/g), o mažiausias – acetoną ($65,8 \pm 1,5$ mg GRE/g), tačiau šių antrinių metabolitų kiekių, išekstrahuotų skirtingais organiniais tirpikliais, skirtumai buvo statistiškai nereikšmingi. Dezodoruotoje žaliavoje, ilgėjant distiliavimo trukmei, bendras fenolinių junginių kiekis, ekstrahuojant įvairiais tirpikliais, mažėjo, o tarp šių kintamųjų nustatyti neigiami koreliaciniai ryšiai. Vertinant distiliavimo trukmės įtaką nustatyta, kad didžiausi fenolinių junginių kiekiai nustatyti trumpesnės distiliavimo trukmės dezodoruotose žaliavose: ekstrahuojant acetonu – $41,9 \pm 0,5$ mg GRE/g (20 minučių dezodoruotoje žaliavoje), etanoliu – $35,4 \pm 1,0$ mg GRE/g (25 minučių dezodoruotoje žaliavoje), metanoliu – $34,3 \pm 1,0$ mg GRE/g (40 minučių dezodoruotoje žaliavoje). Lyginant skirtingus organinius tirpiklius nustatyta, kad nepriklausomai nuo distiliavimo trukmės, efektyviausiai fenolinius junginius iš dezodoruotų žaliavų ekstrahavo acetonas (vidutiniškai $35,3 \pm 4,73$ mg GRE/g).

3. Nustatyta, kad bendras fenolinių junginių kiekis vandeniniuose ekstraktuose, gautuose distiliuojant eterinius aliejus iš *T. × citriodorus* žaliavos, priklauso nuo distiliavimo trukmės: ilgėjant distiliavimo trukmei, bendras fenolinių junginių kiekis vandeniniuose ekstraktuose didėjo, o tarp šių kintamųjų nustatytas statistiškai reikšmingas teigiamas koreliacinis ryšys ($r_s = 0,63$, $p = 0,05$). Mažiausias bendras fenolinių junginių kiekis nustatytas vandeniniame ekstrakte, gautame po 5 minučių distiliavimo ($63,4 \pm 1,5$ mg GRE/ml), statistiškai reikšmingai ($p < 0,05$) skyrėsi nuo didžiausio šių junginių kiekio vandeniniame ekstrakte, gautame po 30 minučių distiliavimo ($95,4 \pm 1,0$ mg GRE/ml).

5. REKOMENDACIJOS

Siekiant išgauti didžiausią eterinio aliejaus kiekį iš *T. × citriodorus* žaliavos, rekomenduojama žaliavą distiliuoti 40 minučių, nes ilgesnis žaliavos distiliavimas didina laiko sąnaudas ir yra nebeefektyvus. Siekiant išsaugoti didesnę bendrą fenolinių junginių kiekį *T. × citriodorus* dezodoruotoje žaliavoje ir eterinių aliejų distiliavimo metu gautuose vandeniniuose ekstraktuose, taip pat rekomenduojama rinktis trumpesnę distiliavimo trukmę (iki 40 minučių), nes tyrimo rezultatai parodė, kad ilgesnė distiliavimo trukmė gali lemti fenolinių junginių praradimą.

ŠALTINIAI

1. Tohidi B, Rahimmalek M, Trindade H. Review on essential oil, extracts composition, molecular and phytochemical properties of *Thymus* species in Iran. *Ind Crops Prod.* 2019 Aug;134:89–99. doi:10.1016/j.indcrop.2019.02.038
2. Orłowska M, Kowalska T, Sajewicz M, Jesionek W, Choma IM, Majer-Dziedzic B, et al. A Comparison of Antibacterial Activity of Selected Thyme (*Thymus*) Species by Means of the Dot Blot Test with Direct Bioautographic Detection. *J AOAC Int.* 2015 Jul 1;98(4):871–5. doi:10.5740/jaoacint.SGE5-Orłowska
3. Oliveira AS, Cavaleiro C, Martinez-de-Oliveira J, Palmeira-de-Oliveira A. *Thymus* × *citriodorus*: an Emerging Aromatic and Medicinal Hybrid Plant with Relevant Bioactive Potential. *Rev Bras Farmacogn.* 2023 Jul 21;33(6):1089–109. doi:10.1007/s43450-023-00423-5
4. Trendafilova A, Todorova M, Ivanova V, Zhelev P, Aneva I. Essential Oil Composition of Five *Thymus* Species from Bulgaria. *Chem Biodivers.* 2021 Oct;18(10):e2100498. doi:10.1002/cbdv.202100498
5. Jurevičiūtė R, Ložienė K, Bruno M, Maggio A, Rosselli S. Composition of Essential Oil of Lemon Thyme (*Thymus* × *Citriodorus*) at Different Hydrodistillation Times. *Nat Prod Res.* 2019 Jan 2;33(1):80–8. doi:10.1080/14786419.2018.1434642
6. Alara OR, Abdurahman NH, Ukaegbu CI. Extraction of phenolic compounds: A review. *Curr Res Food Sci.* 2021;4:200–14. doi:10.1016/j.crfs.2021.03.011
7. Alara OR, Abdurahman NH, Ukaegbu CI. Soxhlet extraction of phenolic compounds from *Vernonia cinerea* leaves and its antioxidant activity. *J Appl Res Med Aromat Plants.* 2018 Dec;11:12–7. doi:10.1016/j.jarmap.2018.07.003
8. Taghouti M, Martins-Gomes C, Félix LM, Schäfer J, Santos JA, Bunzel M, et al. Polyphenol composition and biological activity of *Thymus citriodorus* and *Thymus vulgaris*: Comparison with endemic Iberian *Thymus* species. *Food Chem.* 2020 Nov;331:127362. doi:10.1016/j.foodchem.2020.127362

9. Palmieri S, Maggio F, Pellegrini M, Ricci A, Serio A, Paparella A, et al. Effect of the Distillation Time on the Chemical Composition, Antioxidant Potential and Antimicrobial Activity of Essential Oils from Different *Cannabis sativa* L. Cultivars. *Molecules*. 2021 Aug 6;26(16):4770. doi:10.3390/molecules26164770
10. Ložienė K, Venskutonis PR, Šipailienė A, Labokas J. Radical scavenging and antibacterial properties of the extracts from different *Thymus pulegioides* L. chemotypes. *Food Chem*. 2007 Jan;103(2):546–59. doi:10.1016/j.foodchem.2006.08.027
11. Santos-Buelga C, Gonzalez-Manzano S, Dueñas M, Gonzalez-Paramas AM. Extraction and Isolation of Phenolic Compounds. In: Sarker SD, Nahar L, editors. *Natural Products Isolation* [Internet]. Totowa, NJ: Humana Press; 2012 [cited 2026 Mar 20]. p. 427–64. (Methods in Molecular Biology). Available from: https://link.springer.com/10.1007/978-1-61779-624-1_17 doi:10.1007/978-1-61779-624-1_17
12. Halmschlag CB, Carneiro De Melo Moura C, Brambach F, Siregar IZ, Gailing O. Molecular and morphological survey of Lamiaceae species in converted landscapes in Sumatra. Jugran AK, editor. *PLOS ONE*. 2022 Dec 15;17(12):e0277749. doi:10.1371/journal.pone.0277749
13. Karpiński TM. Essential Oils of Lamiaceae Family Plants as Antifungals. *Biomolecules*. 2020 Jan 7;10(1):103. doi:10.3390/biom10010103
14. Etri K, Pluhár Z. Exploring Chemical Variability in the Essential Oils of the *Thymus* Genus. *Plants*. 2024 May 15;13(10):1375. doi:10.3390/plants13101375
15. Lahlou RA, Samba N, Soeiro P, Alves G, Gonçalves AC, Silva LR, et al. *Thymus hirtus* Willd. ssp. *algeriensis* Boiss. and Reut: A Comprehensive Review on Phytochemistry, Bioactivities, and Health-Enhancing Effects. *Foods*. 2022 Oct 13;11(20):3195. doi:10.3390/foods11203195
16. Elbouny H, Ouahzizi I, Bakali AH, Sellam K, Alem C. A review on Moroccan thyme species: ethnopharmacological, phytochemical, and biological aspects. *Egypt Pharm J*. 2022 Oct;21(4):401–10. doi:10.4103/epj.epj_83_22
17. Millan M, Rowe NP, Edelin C. Deciphering the growth form variation of the Mediterranean chamaephyte *Thymus vulgaris* L. using architectural traits and their relations with different habitats. *Flora*. 2019 Feb;251:1–10. doi:10.1016/j.flora.2018.11.021

18. Pirbalouti AG, Bistghani ZE, Malekpoor F. An overview on genus *Thymus*. *J Herb Drugs*. 2015;6(2).
19. Rita I, Pereira C, Barros L, Ferreira ICFR. Exploring reserve lots of *Cymbopogon citratus*, *Aloysia citrodora* and *Thymus × citriodorus* as improved sources of phenolic compounds. *Food Chem*. 2018 Aug;257:83–9. doi:10.1016/j.foodchem.2018.03.006
20. Hüsni, K., et al. “Chemistry of Essential Oils.” *Flavours and Fragrances*, 2007, pp. 43–86, https://doi.org/10.1007/978-3-540-49339-6_4.
21. Hanif, Muhammad Asif, et al. “Essential Oils.” *Essential Oil Research*, 2019, pp. 3–17, https://doi.org/10.1007/978-3-030-16546-8_1.
22. Baser B. *Handbook of essential oils: science, technology, and applications*. Boca Raton; 2010.
23. Řebíčková K, Bajer T, Šilha D, Ventura K, Bajerová P. Comparison of Chemical Composition and Biological Properties of Essential Oils Obtained by Hydrodistillation and Steam Distillation of *Laurus nobilis* L. *Plant Foods Hum Nutr*. 2020 Dec 1;75(4):495–504. doi:10.1007/s11130-020-00834-y
24. Kessler JC, Vieira VA, Martins IM, Manrique YA, Afonso A, Ferreira P, et al. Obtaining Aromatic Extracts from Portuguese *Thymus mastichina* L. by Hydrodistillation and Supercritical Fluid Extraction with CO₂ as Potential Flavouring Additives for Food Applications. *Molecules*. 2022 Jan 21;27(3):694. doi:10.3390/molecules27030694
25. Périno S, Chemat-Djenni Z, Petitcolas E, Giniès C, Chemat F. Downscaling of Industrial Turbo-Distillation to Laboratory Turbo-Clevenger for Extraction of Essential Oils. Application of Concepts of Green Analytical Chemistry. *Molecules*. 2019 Jul 27;24(15):2734. doi:10.3390/molecules24152734
26. Chemat F, Boutekedjiret C. Extraction // Steam Distillation. In: *Reference Module in Chemistry, Molecular Sciences and Chemical Engineering* [Internet]. Elsevier; 2015 [cited 2026 Mar 14]. p. B9780124095472115574. Available from: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/B9780124095472115574> doi:10.1016/B978-0-12-409547-2.11557-4

27. Haro-González JN, Castillo-Herrera GA, Martínez-Velázquez M, Espinosa-Andrews H. Clove Essential Oil (*Syzygium aromaticum* L. Myrtaceae): Extraction, Chemical Composition, Food Applications, and Essential Bioactivity for Human Health. *Molecules*. 2021 Oct 22;26(21):6387. doi:10.3390/molecules26216387
28. Trindade, Helena, et al. "Chemotypes and Terpene Synthase Genes in *Thymus* Genus: State of the Art." *Industrial Crops and Products*, vol. 124, 15 Nov. 2018, pp. 530–547, <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2018.08.021>.
29. Toncer O, Karaman S, Diraz E, Sogut T, Kizil S. Essential Oil Composition of *Thymus × citriodorus* (Pers.) Schreb. at Different Harvest Stages. *Not Bot Horti Agrobot Cluj-Napoca*. 2017 Jun 10;45(1):185–9. doi:10.15835/nbha45110672
30. Wu S, Wei FX, Li HZ, Liu XG, Zhang JH, Liu JX. [Chemical composition of essential oil from *Thymus citriodorus* and its toxic effect on liver cancer cells]. *Zhong Yao Cai Zhongyaocai J Chin Med Mater*. 2013 May 1;36:756–9.
31. Zheljazkov VD, Horgan T, Astatkie T, Schlegel V. Distillation Time Modifies Essential Oil Yield, Composition, and Antioxidant Capacity of Fennel (*Foeniculum vulgare* Mill). *J Oleo Sci*. 2013;62(9):665–72. doi:10.5650/jos.62.665
32. Cannon JB, Cantrell CL, Astatkie T, Zheljazkov VD. Modification of yield and composition of essential oils by distillation time. *Ind Crops Prod*. 2013 Jan;41:214–20. doi:10.1016/j.indcrop.2012.04.021
33. Xu L, Wang X. A Comprehensive Review of Phenolic Compounds in Horticultural Plants. *Int J Mol Sci*. 2025 Jun 16;26(12):5767. doi:10.3390/ijms26125767
34. Zhang Y, Cai P, Cheng G, Zhang Y. A Brief Review of Phenolic Compounds Identified from Plants: Their Extraction, Analysis, and Biological Activity. *Nat Prod Commun*. 2022 Jan;17(1):1934578X211069721. doi:10.1177/1934578X211069721
35. Gadkari PV, Kadimi US, Balaraman M. Catechin concentrates of garden tea leaves (*Camellia sinensis* L.): extraction/isolation and evaluation of chemical composition. *J Sci Food Agric*. 2014 Nov;94(14):2921–8. doi:10.1002/jsfa.6633

36. Liu S, Lin J, Wang C, Chen H, Yang D. Antioxidant properties of various solvent extracts from lychee (*Litchi chinensis* Sonn.) flowers. *Food Chem.* 2009 May 15;114(2):577–81. doi:10.1016/j.foodchem.2008.09.088
37. Metrouh-Amir H, Duarte CMM, Maiza F. Solvent effect on total phenolic contents, antioxidant, and antibacterial activities of *Matricaria pubescens*. *Ind Crops Prod.* 2015 May;67:249–56. doi:10.1016/j.indcrop.2015.01.049
38. González-Silva N, Nolasco-González Y, Aguilar-Hernández G, Sáyago-Ayerdi SG, Villagrán Z, Acosta JL, et al. Ultrasound-Assisted Extraction of Phenolic Compounds from *Psidium cattleianum* Leaves: Optimization Using the Response Surface Methodology. *Molecules.* 2022 May 31;27(11):3557. doi:10.3390/molecules27113557
39. Dahmoune F, Nayak B, Moussi K, Remini H, Madani K. Optimization of microwave-assisted extraction of polyphenols from *Myrtus communis* L. leaves. *Food Chem.* 2015 Jan;166:585–95. doi:10.1016/j.foodchem.2014.06.066
40. Afonso AF, Pereira OR, Cardoso SM. Health-Promoting Effects of Thymus Phenolic-Rich Extracts: Antioxidant, Anti-inflammatory and Antitumoral Properties. *Antioxidants.* 2020 Sep 1;9(9):814. doi:10.3390/antiox9090814
41. Boros B, Jakabová S, Dörnyei Á, Horváth G, Pluhár Z, Kilar F, et al. Determination of polyphenolic compounds by liquid chromatography–mass spectrometry in Thymus species. *J Chromatogr A.* 2010 Dec;1217(51):7972–80. doi:10.1016/j.chroma.2010.07.042
42. Sarfaraz D, Rahimmalek M, Saeidi G. Polyphenolic and molecular variation in Thymus species using HPLC and SRAP analyses. *Sci Rep.* 2021 Mar 3;11(1):5019. doi:10.1038/s41598-021-84449-6
43. Taghouti, Meriem, et al. “Polyphenol Composition and Biological Activity of Thymus Citriodorus and Thymus Vulgaris: Comparison with Endemic Iberian Thymus Species.” *Food Chemistry*, vol. 331, Nov. 2020, p. 127362, <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2020.127362>. Accessed 30 Nov. 2022.

44. Wollinger A, Perrin É, Chahboun J, Jeannot V, Touraud D, Kunz W. Antioxidant activity of hydro distillation water residues from *Rosmarinus officinalis* L. leaves determined by DPPH assays. *Comptes Rendus Chim.* 2016 Apr 13;19(6):754–65. doi:10.1016/j.crci.2015.12.014
45. Spinozzi E, Boldrini L, Ferrati M, Betti E, Ricciutelli M, Zheljazkov VD, et al. Waste from hemp essential oil production: How distillation methods shape the byproducts value. *Ind Crops Prod.* 2025 Aug;230:121094. doi:10.1016/j.indcrop.2025.121094
46. De Elguea-Culebras GO, Bravo EM, Sánchez-Vioque R. Potential sources and methodologies for the recovery of phenolic compounds from distillation residues of Mediterranean aromatic plants. An approach to the valuation of by-products of the essential oil market – A review. *Ind Crops Prod.* 2022 Jan;175:114261. doi:10.1016/j.indcrop.2021.114261
47. Benchikh Y, Louailèche H. Effects of extraction conditions on the recovery of phenolic compounds and *in vitro* antioxidant activity of carob (*Ceratonia siliqua* L.) pulp. *Acta Bot Gallica.* 2014 Apr 3;161(2):175–81. doi:10.1080/12538078.2014.909325
48. Petreska Stanoeva J, Balshikevska E, Stefova M, Tusevski O, Simic SG. Comparison of the Effect of Acids in Solvent Mixtures for Extraction of Phenolic Compounds From *Aronia melanocarpa*. *Nat Prod Commun.* 2020 Jul;15(7):1934578X20934675. doi:10.1177/1934578X20934675
49. Upadhyay R, Jha A, Singh SP, Kumar A, Singh M. Appropriate solvents for extracting total phenolics, flavonoids and ascorbic acid from different kinds of millets. *J Food Sci Technol.* 2015 Jan;52(1):472–8. doi:10.1007/s13197-013-0976-0
50. Chaban VV. Solubility Properties of Methanol in Organic Solvents. In: *Comprehensive Methanol Science* [Internet]. Elsevier; 2025 [cited 2026 Mar 20]. p. 37–53. Available from: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/B9780443157400000045> doi:10.1016/B978-0-443-15740-0.00004-5
51. Walasek-Janusz M, Papliński R, Mysiak B, Nurzyńska-Wierdak R. Phenolic Profile and Antioxidant Activity of Extracts from Aerial Parts of *Thymus vulgaris* L. and *Sideritis scardica* Griseb. *Appl Sci.* 2025 Apr 1;15(7):3842. doi:10.3390/app15073842

52. Polo V, Domingo LR, Andrés J. Toward an Understanding of the Catalytic Role of Hydrogen-Bond Donor Solvents in the Hetero-Diels–Alder Reaction between Acetone and Butadiene Derivative. *J Phys Chem A*. 2005 Nov 1;109(45):10438–44. doi:10.1021/jp054048g
53. Boeing JS, Barizão ÉO, E Silva BC, Montanher PF, De Cinque Almeida V, Visentainer JV. Evaluation of solvent effect on the extraction of phenolic compounds and antioxidant capacities from the berries: application of principal component analysis. *Chem Cent J*. 2014 Dec;8(1):48. doi:10.1186/s13065-014-0048-1
54. Pršlja P, Žibert T, Urbic T. Monte Carlo simulations of simple two dimensional water-alcohol mixtures. *J Mol Liq*. 2022 Dec;368:120692. doi:10.1016/j.molliq.2022.120692
55. Total Polyphenolic Content and Antioxidant Activity of Different Extracts from *Sideritis scardica*. *Trop J Nat Prod Res*. 2022 Jul 31;6(7). doi:10.26538/tjnpr/v6i7.12
56. Zazouli S, Chigr M, Jouaiti A. Effect of polar and nonpolar solvent on total phenolic and antioxidant activity of roots extracts of *Caralluma europaea*. 2016.
57. Zagorcheva T. Comparative GC/MS analysis of lavender (*Lavandula angustifolia* Mill.) inflorescence and essential oil volatiles. Vol. 5. 2013;5(4):459–62.
58. European Pharmacopoeia. 2026. Council of Europe publishing. 6th ed. Strasbourg, France.
59. Antony A, Farid M. Effect of Temperatures on Polyphenols during Extraction. *Appl Sci*. 2022 Feb 17;12(4):2107. doi:10.3390/app12042107
60. Berktaş S, Cam M. Peppermint leaves hydrodistillation by-products: bioactive properties and incorporation into ice cream formulations. *J Food Sci Technol*. 2021 Nov;58(11):4282–93. doi:10.1007/s13197-020-04903-7
61. Dai J, Mumper RJ. Plant Phenolics: Extraction, Analysis and Their Antioxidant and Anticancer Properties. *Molecules*. 2010 Oct 21;15(10):7313–52. doi:10.3390/molecules15107313
62. Aouam I, El Atki Y, Taleb M, Taroq A, El Kamari F, Lyoussi B, et al. Antioxidant Capacities and Total Phenolic Contents of *Thymus riatarum*. *Mater Today Proc*. 2019;13:579–86. doi:10.1016/j.matpr.2019.04.016

63. Skendi A, Irakli M, Chatzopoulou P. Analysis of phenolic compounds in Greek plants of Lamiaceae family by HPLC. *J Appl Res Med Aromat Plants*. 2017 Sep;6:62–9. doi:10.1016/j.jarmap.2017.02.001
64. Luca SV, Zengin G, Sinan KI, Skalicka-Woźniak K, Trifan A. Post-Distillation By-Products of Aromatic Plants from Lamiaceae Family as Rich Sources of Antioxidants and Enzyme Inhibitors. *Antioxidants*. 2023 Jan 16;12(1):210. doi:10.3390/antiox12010210
65. Nateqi M, Mirghazanfari SM. Determination of total phenolic content, antioxidant activity and antifungal effects of *Thymus vulgaris*, *Trachyspermum ammi* and *Trigonella foenum-graecum* extracts on growth of *Fusarium solani*. *Cell Mol Biol*. 2018 Nov 30;64(14):39–46. doi:10.14715/cmb/2018.64.14.7
66. Psarrou I, Oreopoulou A, Tsimogiannis D, Oreopoulou V. Extraction Kinetics of Phenolic Antioxidants from the Hydro Distillation Residues of Rosemary and Effect of Pretreatment and Extraction Parameters. *Molecules*. 2020 Oct 2;25(19):4520. doi:10.3390/molecules25194520

PADĖKA

Esu nuoširdžiai dėkinga darbo vadovei doc. dr. Kristinai Ložienei už skirtą laiką, kantrybę, vertingas pastabas bei nuolatinį palaikymą viso magistrinio darbo rengimo metu. Kiekviena įžvalga ar komentaras buvo naudingi ir prisidėjo prie tolimesnio darbo tobulinimo.