



Keemia ja biotehnoloogia instituut

Loodusteaduskond

Sidruni koore eeterliku õli analüüs

Bakalaureusetöö

Üliõpilane: Kristiina Leibur 193320LAAB

Juhendaja: Tiina Lõugas, lektor

Õpperekava: Rakenduskeemia, toidu- ja geenitehnoloogia

Tallinn 2022



Department of Chemistry and Biotechnology

School of Science

Analysis of Essential Oil from Lemon Peel

Bachelor's thesis

Student: Kristiina Leibur 193320LAAB

Supervisor: Tiina Lõugas, lector

Curriculum: Applied Chemistry, Food and Gene Technology

Tallinn 2022

Autori deklaratsioon

Kinnitan, et olen koostanud antud lõputöö iseseisvalt ning seda ei ole kellegi teise poolt varem kaitsmisele esitatud. Kõik töö koostamisel kasutatud teiste autorite tööd, olulised seisukohad, kirjandusallikatest ja mujalt pärinevad andmed on töös viidatud.

Autor: Kristiina Leibur

Töö vastab bakalaureusetööle esitatavatele nõuetele.

Juhendaja: Tiina Lõugas

Töö on lubatud kaitsmisele.

Kaitsmiskomisjoni esimees: Vello Tõugu

Sisukord

Sissejuhatus	9
1. Kirjanduse ülevaade	10
1.1. Sidrun	10
1.1.1. Sidruni karakteristikud	10
1.1.2. Sidruni struktuur	10
1.1.3. Sordid	11
1.1.4. Sidruni koore olulisus	12
1.2. Sidruni eeterlik õli	12
1.2.1. Sidruni koore eeterliku õli koostis	12
1.2.2. Bioloogilised omadused	15
1.2.3. Eeterliku õli eraldamise viisid ja saagist mõjutavad parameetrid	16
1.2.4. Hüdrolaadid	19
1.2.5. Eeterliku õli koostise analüüsime	19
1.2.6. Eeterlike õlide kasutamine	20
1.2.7. Ohutus	23
1.2.8. Eeterlike õlide hoiustamine	24
2. Töö eesmärk	25
3. Eksperimentaalne osa	26
3.1. Kasutatud materjalid ja reagendid	26
3.2. Meetodid	27
3.2.1. Vesidestillatsioon	27
3.2.2. Sidruni koore eeterliku õli koostise analüüs	28
4. Tulemused ja arutelu	29
4.1. Vesidestillatsioon	29
4.2. Sidruni koore eeterliku õli koostise analüüs	30
4.3. Järeldused	31
Kokkuvõte	32
Tänuavaldused	33
Kasutatud allikad	34
Lisad	
Lisa 1. Eureka sidruni koore eeterliku õli koostis	
Lisa 2. Primofiori sidrunite koore eeterliku õli saagised	
Lisa 3. Sidrun 1 koore eeterliku õli koostise analüüsi tulemused	

Lisa 4. Sidrun 2 koore eeterliku õli koostise analüüs tulemused

Lisa 5. Sidrun 1 koore eeterliku õli analüüs kromatogramm

Lisa 6. Sidrun 2 koore eeterliku õli analüüs kromatogramm

Annotatsioon

Sidruni koort peetakse üldiselt jäätmeeks, kuigi see sisaldab mitmeid ühendeid, millel on olulised bioloogilised toimed. Sidruni koore eeterlikus õlis olevatel ühenditel on mikroobi- ja seenevastased, põletikuvastased ja antioksüdantsed omadused.

Töö eesmärk on uurida sidruni koore eeterlikku õli. Töö ülesanded on eraldada sidruni koore eeterlikku õli vesidestillatsiooni meetodil ning uurida selle koostist gaaskromatograafiamassispektromeetria abil. Tulemuste alusel arutletakse, mis parameetrid mõjutavad eeterliku õli saagist ja selle koostist. Töös uuriti kahte Primofiori sidrunit. Sidruni 1 ja 2 eeterliku õli saagised vesidestillatsioonil olid vastavalt $3,84 \pm 0,35\%$ ja $4,68 \pm 0,27\%$ vörreldes artikli saagisega $0,54 \pm 0,03\%$. Suurema eeterliku õli saagise andis sidrun, mille *flavedo* oli õhem ja väiksema niiskussisaldusega. Vörreldes kirjanduses analüüsitud Eureka sidruniga, saadi katselisel teel Primofiori sidrunitega märgatavalt suuremad saagised. Uuritud sidrunite koore eeterliku õli koostised olid väga sarnased. Eureka ja Primofiori sidruni koore eeterliku õli põhikomponendid olid limoneen, β -pineen, γ -terpineen, α -pineen, β -mürtseen ja geraniaal. Primofiori eeterliku õli koostises olevat põhikomponenti sabineeni Eureka eeterlik õli ei sisaldanud. Eureka ja Primofiori sidruni koore eeterliku õli limoneeni sisaldus oli vastavalt 72,90 ja 57,20%. Tööst võib järeldada, et sidruni sort mõjutab nii eeterliku õli saagist kui ka selle koostist. Eeterliku õli saagis on mõjutatud ka sidruni koore paksusest ja niiskussisaldusest.

Abstract

Lemon peel is considered as a waste, although it consists of multiple compounds that have important biological properties. Compounds in lemon peel essential oil have antimicrobial, antifungal, anti-inflammatory, and antioxidant properties.

The purpose of this thesis is to study the essential oil from lemon peels. The tasks are to extract essential oil from lemon peel using hydro distillation and to examine the composition of extracted essential oil using gas chromatography coupled with mass spectrometry. Based on the results, it is discussed which parameters affect the yield and composition of the essential oil. Two Primofiori lemon varieties were studied. The yields of lemon 1 and 2 essential oil from peel by water distillation were $3.84 \pm 0.35\%$ and $4.68 \pm 0.27\%$, respectively, compared to the article yield of $0.54 \pm 0.03\%$. The lemon, which had a finer *flavedo* and lower moisture content, gave a higher yield of essential oil. Significantly higher yields were obtained experimentally with Primofiori lemons compared to Eureka lemons analyzed in the literature. The compositions of the essential oil from lemon peels studied were very similar. The main components of Eureka and Primofiori lemon peel essential oil were limonene, β -pinene, γ -terpinene, α -pinene, β -myrcene and geranium. One of the main components of Primofiori essential oil, namely sabinene, was not found in the essential oil of Eureka lemon. The limonene content of the essential oil of Eureka and Primofiori lemon peel was 57.20 and 72.90%, respectively. In conclusion, the variety of lemon affects the yield and the composition of the essential oil. The yield of essential oil is also affected by the thickness and moisture content of the lemon peel.

Lühendite loetelu

EÖ – eeterlik õli (inglise keeles *Essential Oil*)

TK – tsitruste koor (inglise keeles *Citrus Peel*)

SEÖ – sidruni eeterlik õli (inglise keeles *Lemon Essential Oil*)

SKEÖ – sidruni koore eeterlik õli (inglise keeles *Lemon Peel Essential Oil*)

TEÖ – tsitruste eeterlik õli (inglise keeles *Citrus Essential Oil*)

VAD – veeaurudestillatsioon (inglise keeles *Steam Distillation*)

VD – vesidestillatsioon (inglise keeles *Hydrodistillation*)

GC – gaaskromatograafia (inglise keeles *Gas Chromatography*)

MS – massispektromeetria (inglise keeles *Mass Spectrometry*)

LDL – madala tihedusega lipoproteiinid (inglise keeles *Low-density lipoproteins*)

HDL – kõrge tihedusega lipoproteiinid (inglise keeles *High-density lipoproteins*)

Sissejuhatus

Sidrunit kasutatakse peamiselt mahla pärast ning vilja koort peetakse jäätmeeks. Sidruni koore eeterlik õli on aga mitmete bioloogiliste toimetega ühendite allikas. Selles sisalduvad ühendid omavad antibakteriaalset, seenevastast, antioksüdantset ja antiinflammatoorset toimet (Singh, Singh, Kaur, & Yadav, 2021). Sidruni koore eeterlikku õli kasutatakse toiduainetööstuses naturaalse maitse- ja säilitusainena (Bhavanirama, Vishnupriya, Al-Aboody, Vijayakumar, & Baskaran, 2019), kosmeetikatööstuses lõhna- ja säilitusainena (Sharmeen, Mahomoodally, Zengin, & Maggi, 2021), aroomiteraapias vaimse ja füüsiline stressi leevedajana (Bhavanirama, Vishnupriya, Al-Aboody, Vijayakumar, & Baskaran, 2019) ning meditsiinis immuunsust tugevdava ja seedimist soodustava ainena (Festy, 2019). Teema on aktuaalne, kuna üha enam tahetakse kasutada igapäevaelus looduslikke alternatiive sünteetiliste ainete asemel ning pööratakse rohkem tähelepanu toiduraiskamise vähendamisele.

Töö eesmärk on uurida sidruni koore eeterlikku õli. Töö ülesanneteks on eraldada sidruni koorest eeterlik õli kasutades vesidestillatsiooni meetodit ja uurida eraldatud eeterliku õli koostist. Töös võrreldakse kahe Primofiori sidruni koore eeterliku õli saagist ja koostist omavahel ning ka kirjandusallika tulemustega ja arutletakse, millega on tingitud eeterliku õli saagise ja koostise erinevused.

Töös püstitatud hüpotees on järgmine: uuritud sidrunite koore eeterliku õli saagised on erinevad ja koostised on ühesugused.

Töö on jagatud kaheks osaks. Kirjanduse ülevaates antakse ülevaade sidrunist üldiselt, sidruni koore olulisusest, sidruni koore eeterlikust ölist ja selle eraldamisviisidest, bioloogilistest omadustest ning kasutusaladest. Teises osas antakse ülevaade töö katselisest poolest. Katselises osas uuritakse sidruni koore eeterliku õli eraldamist vesidestillatsiooni meetodil ja selle koostist gaaskromatograafia-massispektromeetria abil.

1. Kirjanduse ülevaade

1.1. Sidrun

Citrus limon ehk sidrunipuu on igihaljaste lehtede ja kollaste söödavate viljadega puu sugukonnast *Rutaceae*. Perekond tsitrused on üks olulisemaid taksonoomilisi allüksusi *Rutaceae* sugukonnas. Sellesse perekonda kuuluvate liikide vilju nimetatakse tsitrusviljadeks. Tsitrusviljade perekonda kuuluvad liigid esinevad looduslike soojate ja pehme kliimaga aladel, peamiselt Vahemere piirkonnas. Tavaliselt on nad külma suhtes tundlikud (Klimek-Szczykutowicz, Szopa, & Ekiert, 2020).

Tsitruse perekonna üks tuntumaid ja enim kasutatud liike on *Citrus limon* ehk sidrun. Teised sellesse taksonoomilisse üksusesse kuuluvad olulised liigid on *Citrus aurantium* ehk mõruapelsin, *Citrus sinensis* ehk magus apelsin, *Citrus reticulata* ehk mandariin, *Citrus paradise* ehk greip, *Citrus bergamia* ehk bergamoti apelsin ja *Citrus medica* ehk tsitron. On leitud, et sidrun tekkis mõruapelsini ja tsitroni ristumisel (Klimek-Szczykutowicz, Szopa, & Ekiert, 2020).

Citrus limon (L.) Burm. f. ehk sidrunipuu on 2,5–3m kõrgune. Sellel on igihaljad lansolaatsed lehed. Puu õied on valged, lillaka varjundiga kroonlehtede servades. Õied esinevad üksikult või koondunult väikestesse kobaraatesse (Klimek-Szczykutowicz, Szopa, & Ekiert, 2020). Sidruni õied lõhnavad magusalt (Caballero, Trugo, & Finglas, 2003). Sidrunipuu vili on botaaniliselt mari, mis muutub valmimise ajal rohelisest kollaseks. Sidrunipuu algse loodusliku elupaiga asukoht pole täpselt teada, kuid selle kodumaaks peetakse Loode- või Kirde-Indiaat (Klimek-Szczykutowicz, Szopa, & Ekiert, 2020).

1.1.1. Sidruni karakteristikud

Enamik sidrunivilju on ovaalse kuni elliptilise kujuga (Caballero, Trugo, & Finglas, 2003). Sidrunitel on väljaulatuv tipp, mida kutsutakse nibuks (Evans & Evans, 2009). Sidrunitel on ka varre ots ehk kael (Caballero, Trugo, & Finglas, 2003). Sidrunikoor esineb kuni 2 cm laiuste ja 2–3 mm paksuste spiraalsete ribadena (Evans & Evans, 2009). Küpse vilja koor on üldiselt kollane, kuid selle paksus ja siledus võivad oluliselt erineda (Caballero, Trugo, & Finglas, 2003). Koore sisepind on valge (Evans & Evans, 2009). Viljaliha on kahvatukollane ja väga happeline ning selles võib olla erinev arv seemneid. Sama sort võib erinevate kliimatingimustega ja pöllumajanduslike võtete korral visuaalselt erineda (Caballero, Trugo, & Finglas, 2003).

1.1.2. Sidruni struktuur

Sidruni viljade struktuur sarnaneb teiste tsitrusviljadega (Caballero, Trugo, & Finglas, 2003). Sidruni vili moodustub kolmest kihist: eksokarp, mesokarp ja endokarp. Eksokarp on õhuke kollast värviga vahaga kaetud kiht, mida nimetatakse *flavedo*'ks. *Flavedo* osa sisaldab õlivesiikuleid ja karotenoidseid pigmenti. Mesokarp ehk *albedo* on moodustunud käsijast valgest koest. Endokarp ehk viljaliha on jaotatud mesokarbi käsnalise valge koe abil segmentideks (Klimek-Szczykutowicz, Szopa, & Ekiert, 2020). Ebaküpse sidruni *flavedo* on roheline, kuna enne täielikku valmimist on *flavedo*'s klorofülli rohkem kui karotenoidseid pigmenti. *Albedo* sisaldab tselluloose ja lahustuvaid süsivesikuid, pektiini ja protopektiini, flavonoide, aminohappeid ja vitamiine. Väärtuslikku eeterlikku öli (EÖ) sisaldavad rasunäärmed paiknevad peamiselt *flavedo*'s, kuigi suuremad rasunäärmed võivad ulatuda ka *albedo* ülemisse ossa (Caballero, Trugo, & Finglas, 2003).

Sidruni viljaliha on jagatud segmentideks. Iga segment koosneb kuni mitmesajast ühikust, mida nimetatakse mahlakottideks või vesiikuliteks, mis sisaldavad sidrunimahla. Vesiikulite seinad koosnevad tselluloosist, hemitselluloosist, pektiinist, protopektiinist, suhkrutest, flavonoididest ja muudest vähematest komponentidest nagu aminohapped ja C-vitamiin. Vesiikulid piiravad mahla mikroobset ja ensümaatilist lagunemist (Caballero, Trugo, & Finglas, 2003).

1.1.3. Sordid

Sidruneid on mitmeid sorte. Tihti on keeruline sorte eristada, kuna viljad on teineteisega väga sarnased või isegi identsed. Sidruni viljadel võib olla erinev koore pind, värv ja paksus. Sidruni sorte on võimalik paremini eristada sidrunipuu omaduste abil. Sidrunipuu võivad hargneda vertikaalselt või horisontaalselt. Puude okkalitus, lehestiku tihedus ja lehtede suurus võib olla erinev. Mõned sordid taluvad külma paremini kui teised. Sorte saab eristada ka viljade kandmise ja küpsuse aja järgi. Näiteks kannavad mõned sordid aastaläbi vilja, kuid teised sordid ainult kindlal aastaajal (Hodgson & Swingle, 1967).

Verna

Verna sidrunipuu pärit Hispaaniast. Sidrunipuu on suur ja ilma okasteta. Sidrunipuu õitseb 2-3 korda aastas (Klimek-Szczykutowicz, Szopa, & Ekiert, 2020). Verna sidrunit korjatakse peamiselt talvel (Caballero, Trugo, & Finglas, 2003). Puu on väga elujõuline ja produktiivne, püsti hargnev. Verna on üks populaarsemaid sidruni sorte Hispaanias (Hodgson & Swingle, 1967).

Vili on keskmise suurusega, ovaalse kuni elliptilise kujuga. Viljal on tugevalt väljaulatuv tipp ja lühike kael. Seemneid on viljas väga vähe või ei ole üldse. Küps sidrun on erekollane. Vilja koor on keskmise paksusega, kare ja tihedalt kleepuv (Hodgson & Swingle, 1967)

Eureka

Eureka on üks vanimaid kommertsiaalseid sidruni sorte. See on ka üks enim kasvatatud sorte väljaspool Vahemere ala (Caballero, Trugo, & Finglas, 2003). Eureka sidrunipuu pärit Californiast ja Sitsiiliast (Klimek-Szczykutowicz, Szopa, & Ekiert, 2020). Puu on keskmise elujõulisuse ja suurusega, peaaegu ilma okasteta, pikade okste ja hõreda lehestikuga. Puu on väga tundlik külmale ja putukinfektsioonidele (Hodgson & Swingle, 1967). Sidrunipuu õied on roosat tooni (Klimek-Szczykutowicz, Szopa, & Ekiert, 2020). Puu kannab vilja aastaläbi, kuid saaki korjatakse peamiselt hilistalvel, kevadel ja varasuvvel (Hodgson & Swingle, 1967).

Vili on väikese või keskmise suurusega, elliptilise või pikliku kujuga, lühikese kaelaga ja pika väljaulatava tipuga. Küpse vilja koor on kollane, keskmise paksusega ja tugeva kleepuvusega. Viljaliha on jaotatud 10-ks segmendiks. Viljaliha on rohekas-kollane, mahlane ja tugevalt happelise maitsega (Hodgson & Swingle, 1967).

Primofiori

Primofiori sidruni päritolumaa on Hispaania (Klimek-Szczykutowicz, Szopa, & Ekiert, 2020). Primofiori, teisisõnu talvesidrun on üks tuntuim kommertsiaalne sidruni sort. Vilja valmimisaeg on oktoobrist aprillini (Amenta, et al., 2015). Puu on väga elujõuline, suurt kasvu, väga okkaline ja

produktiivne. Puu lehestik on võrreldes Vernaga tihedam, lehed on suuremad (Hodgson & Swingle, 1967).

Vilja kuju on on kerakujuline või ovaalne (Klimek-Szczykutowicz, Szopa, & Ekiert, 2020). Vilja koor on helerohelise kuni tsitriinkollane. Vili on keskmise suurusega. Viljaliha on kahvaturohelise kuni tsitriinkollane. Mahl on tsitriinkollane (Amenta, et al., 2015). Vilja väljaulatuv tipp on väike ja terav. Viljal on seemneid mõõdukalt. Võrreldes Verna sidruniga on Primofiori sidruni värv tuhmim, koor õhem ja siledam, mahlakogus suurem ja maitse happelisem (Hodgson & Swingle, 1967).

1.1.4. Sidruni koore olulisus

Tsitruste koor (TK) moodustab umbes 40–50% viljade massist (Singh, Singh, Kaur, & Yadav, 2021). TK-d on tsitrusetööstuse kõrvvalsaadused ja neid peetakse paljudes riikides peamiselt jäätmeteks (Oboh, Olasehinde, & Ademosun, 2014). Sidrunikoor moodustab 29-32% vilja massist (Teigiserova, Tiruta-Barna, Ahmadi, Hamelin, & Thomsen, 2021). Tsitrusviljade töötlemisel, näiteks mahla valmistamisel ja konserveerimisel tekib tuhandeid tonne TK-i, mis on oluliseks bioaktiivsete komponentide nagu fenoolühendid, eeterlik õli, karotenoidid ja C-vitamiin allikaks. TK-te töötlemine on suur probleem tsitrusviljade kõrvvalsaadusi töötlevas tööstuses, sest nendest kasutatakse ainult väikest kogust samas kui suur kogus maetakse maha ja põletatakse, mis võib saastada keskkonda ja raisata ressursse. Tsitruste koor on köige rikkalikum eeterliku õli allikas, mida on 0,5–3,0kg ühe tonni tsitrusviljade kohta (Singh, Singh, Kaur, & Yadav, 2021). Suur osa TK-te bioaktiivsusest on seotud fenoolühendite sisaldusega, mis on koortes rohkem kontsentreeritud kui mahlas ja seemnetes (Oboh, Olasehinde, & Ademosun, 2014).

Sidrunikoor sisaldab rohkelt pektiini, mida kasutatakse toidutööstuses geelistava ainena moosides ja tarretistes, paksendajana, emulgaatorina, tekstureerijana ja stabilisaatorina piimatoodetes (Klimek-Szczykutowicz, Szopa, & Ekiert, 2020).

1.2. Sidruni eeterlik õli

Eeterlikud õlid on lenduvate aromaatsete ühendite kogumid, mida leidub taimede koores, viljas, õites, juurtes ja lehtedes. EÖ-d on hüdrofoobsed, mistõttu nad ei lahustu polaarses lahustis nagu vesi, vaid lahustuvad mittepolaarsetes lahustites nagu eeter ja etanool (Hanif, Nisar, Ghufra, Mushtaq, & Zubair, 2019). Eeterlikud õlid mängivad taimede kaitse- ja signaliseerimisprotsessides väga olulist rolli. Näiteks kaitsevad nad taime taimtoiduliste loomade, putukate ja mikroorganismide eest (Sharmeen, Mahomoodally, Zengin, & Maggi, 2021). EÖ-de lõhn meelitab putukaid tolmeldama. EÖ-de funktsioonide tõttu nimetatakse neid taimede elujõuks. Võib öelda, et eeterlikes õlides peitub taimede olemus (Shankar, et al., 2021).

Sidruni eeterlik õli (SEÖ) on värvitu või kollase varjundiga ja omab tugevat sidruni lõhnna (Klimek-Szczykutowicz, Szopa, & Ekiert, 2020).

1.2.1. Sidruni koore eeterliku õli koostis

Sidruni koore eeterlik õli (SKEÖ) on kontsentreeritud hüdrofoobne vedelik, mis esineb sidruni *flavedo* õlirakkudes. EÖ moodustab 0,5–5% sidruni koore värskest massist ja koosneb lenduvatest aromaatsetest ühenditest (Singh, Singh, Kaur, & Yadav, 2021). SKEÖ peamised komponendid on monoterpeenid ja seskviterpeenid. SKEÖ hapnikuga rikastatud komponentide hulka kuuluvad

aldehüüdid, estrid, alkoholid (Singh, Singh, Kaur, & Yadav, 2021) ja ka ketoonid (Mahato, Sharma, Koteswararao, Sinha, & Baral, 2017). Sidruni koore eeterlik õli sisaldab ka kumariine, furanokumariine ja flavonoide (Klimek-Szczykutowicz, Szopa, & Ekiert, 2020).

Süsivesinikud

Süsivesinikud on ühed peamised EÕ-de koostisosad, mis koosnevad ainult kahest põhistruktuurist, nimelt süsiniku- ja vesinikaatomist. Lihtsad süsivesinikud nagu alkaanid, alkeenid ja bensenoidid on tuntud ka kui mitteterpenoidsed süsivesinikud (Bhavanirama, Vishnupriya, Al-Aboody, Vijayakumar, & Baskaran, 2019). Isopreen on põhiline EÕ-des leiduv süsivesinikuühik (Hanif, Nisar, Ghufrana, Mushtaq, & Zubair, 2019).

Sõltuvalt süsinikuaatomite avatud ahela olemasolust jaotatakse süsivesinikud alifaatseteks süsivesinikeks, alkaanideks ja aromaatseteks süsivesinikeks. Alifaatsed süsivesinikud on lineaarsed ahelad, millel ei ole aromaatset ringi. Alifaatsed molekulid on näiteks C8-, C9- ja C10-aldehüüdid, mis aitavad kaasa terava lõhna tekitamisele ning neid leidub tsitruseõlis väikestes kogustes. C6-aldehüüde, mis vastutavad lehelise lõhna eest, leidub mõnes lilleõlis. Alkaanid on süsivesinikud, mille süsiniku aatomite vahel on üksiksidemed. Aromaatsed süsivesinikud on ühendid, millel on tavaliselt benseenitsükkel ja polütsüklilised struktuurid. Nende ühendite hulka kuuluvad naftaleen ja bensopüreen, mis on esimesed taimedest eraldatud benseeni derivaadid, mis vastutavad meeldiva lõhna eest (Bhavanirama, Vishnupriya, Al-Aboody, Vijayakumar, & Baskaran, 2019).

Terpeenid

Järgmised peamised keemilised komponendid eeterikes õlides on terpeenid, madala molekulmassiga ühendid (Bhavanirama, Vishnupriya, Al-Aboody, Vijayakumar, & Baskaran, 2019). Terpeenid on antiseptilised, põletikuvästased ja antimikroobsed (Hanif, Nisar, Ghufrana, Mushtaq, & Zubair, 2019). Terpeenide põhistruktuuriks on 5-süsiniupõhised ühikud ehk isopreenid (Bhavanirama, Vishnupriya, Al-Aboody, Vijayakumar, & Baskaran, 2019). Kaks, kolm ja neli isopreeni ühikut on ühendatud pea ja sabaga ja moodustavad nii vastavalt monoterpeenid, seskviterpeenid ja diterpeenid (Hanif, Nisar, Ghufrana, Mushtaq, & Zubair, 2019). Monoterpeenid moodustavad EÕ-de koostisest 90% ja panustavad antimikroobse toime tättu toiduainete säilivusse (Bhavanirama, Vishnupriya, Al-Aboody, Vijayakumar, & Baskaran, 2019). Monoterpeenid on näiteks pineen, limoneen, kamfeen ja piperiin (Hanif, Nisar, Ghufrana, Mushtaq, & Zubair, 2019).

Sidruni koore eeterlik õli sisaldab monoterpeenidena limoneeni, β -pineeni ja γ -terpineeni ning seskviterpeenidena β -bisaboleeni, β -karüofülleeni ja α -bergamoteeni. Limoneen on erinevate tsitruste, näiteks sidruni koore, eeterliku õli peamine komponent. Ühend on tuntud oma meeldiva sidrunilõhna poolest ja seda kasutatakse laialdaselt toiduainetes lõhna- ja maitseainena (Singh, Singh, Kaur, & Yadav, 2021).

Alkoholid

Terpeene, millel on hüdroksüürühm, nimetatakse alkoholideks. Alkoholid on antiseptilised, viiruse- ja bakterivästased. Alkoholid võivad esineda vabas vormis või kombineerituna teiste terpeenide või estritega. EÕ-des leiduvad alkoholid on näiteks linalool lavendlis ja ylang-ylangis ning geraniool

roosis ja kurerehas (Hanif, Nisar, Ghufrana, Mushtaq, & Zubair, 2019). SKEÕ-s sisalduvad alkoholid on linalool, geraniool ja nerool (Singh, Singh, Kaur, & Yadav, 2021).

Aldehyüdid ja ketoonid

Aldehyüdid ja ketoonid on alkoholide hapendamise teel saadud ühendid, mis sisaldavad keto- ehk karbonüülرühma, milles süsinik on hapnikuga seotud kaksksidemega. Aldehyüdides on karbonüülرühm seotud vesiniku aatomi ja ühe radikaaliga. Ketoonides on karbonüülرühm seotud vesiniku aatomi ja kahe radikaaliga (Siim, 1963).

Aldehyüdid on põletikuvastased, seenevastased, antiseptilised, bakteri- ja viirusevastased. Aldehyüdid omavad rahustavat ja desinfitseerivat toimet. Eeterlikes õlides sisalduvad aldehyüdid omavad suurt meditsiinilist tähtsust, kuna on tõhusad *Candida* ja paljude teiste seennakkuste ravis. Aldehyüdid on näiteks tsitraal sidrunis ja tsitronellaal sidrunmelassis (Hanif, Nisar, Ghufrana, Mushtaq, & Zubair, 2019). Tsitraal on SKEÕ üks olulisemaid koostisos, kuna omab sidrunile omast lõhna ja maitset (Caballero, Trugo, & Finglas, 2003). Sidruni koore eeterlikus õlis esinevad aldehyüdid lisaks tsitraalile on geraniaal, dekanaal, neraal, tsitronellaal ja oktanaal (Singh, Singh, Kaur, & Yadav, 2021).

Ketoonid soodustavad haavade paranemist ja armkoe moodustumist. Ketoonid on üldiselt, kuid mitte alati, mürgised. Kõige mürgisem ketoon on tujoon, mida leidub salvei-, puju-, kirohu- ja tujaõlis. Mõned mittetoksilised ketoonid on fenkoon apteegitilliõlis, jasmoon jasmiini eeterlikus õlis, mentoon piparmündiõlis ja karvoon rohemündiõlis (Hanif, Nisar, Ghufrana, Mushtaq, & Zubair, 2019). Tsitruste eeterlikes õlides (TEÕ) sisalduvad ketoonid on mentoon ja p-vetivoon (Mahato, Sharma, Koteswararao, Sinha, & Baral, 2017).

Estrid

Estrid on ühendid, mis moodustuvad siis, kui hapete ja alkoholide reageerimisel eraldub vesi (Siim, 1963). EÕ-des sisalduvatel estritel on rahustav ja tasakaalustav toime. Estrid on tõhusad antimikroobsed ained, kuna nende struktuuris on alkohol. Meditsiinivaldkonnas iseloomustatakse estreid kui rahustavaid ja seenevastaseid aineid, mis tasakaalustavad närvisüsteemi. EÕ-des leiduvad estrid on näiteks linalüülätsetaat lavendlis ning bergamot ja geraanüülformiaat kurekehas (Hanif, Nisar, Ghufrana, Mushtaq, & Zubair, 2019). SKEÕ-s sisalduvad estrid on geranüülätsetaat ja nerüülätsetaat (Singh, Singh, Kaur, & Yadav, 2021).

Kumariinid

Kumariinid esindavad olulist looduslikult esinevate bensopürooniühendite perekonda, mis koosnevad püroonitsükliga seotud benseenitsüklist. Looduslikud kumariinid jagunevad kuueks põhirühmaks: lihtkumariinid, furanokumariinid, püranokumariinid, bikumariinid, bensokumariinid ja kumestaanid. Kumariine peetakse sekundaarsketeks taimede metaboliitideks, mis kaitsevad taime nakkuste eest ning millel on oluline roll taimede biokeemias ja füsioloogias. Kumariinid toimivad antioksüdantidena, ensüümi inhibiitoritena ja toksiliste ainete lähteainetena. Kumariinidel ja nende derivaatidel on lai valik bioloogilisi omadusi. Neid on kasutatud paljudes farmakoloogilistes rakendustes: antimikroobsed ained, antioksüdandid, põletikuvastased ained, vähevastased ained, antikoagulandid ja viirusevastased ained. Kumariine iseloomustab magus lõhn, mida seostatakse

värsk heina, lõhnava madara või vanilli lõhnaga. Iseloomuliku meeldiva lõhna tõttu kasutatakse kumariine parfüümitööstuses. Tsitruste koor on rikkalik kumariinide ja furanokumariinide allikas (Lončar, et al., 2020).

Sidruni koore eeterlik õli sisaldab kumariinidest tsitroopeeni ja herniariini ning fotosensitiivsetest furanokumariinidest bergapteeni ja oksüpeutsedaniini (Klimek-Szczykutowicz, Szopa, & Ekiert, 2020).

Flavonoidid

Flavonoidid on polüfenoolsed ühendid, millel on kaks benseeniringi, mis on ühendatud lineaarse kolme süsiniku ahelaga ja millel on karbonüülgrupp. Tsitrustes leiduvatel flavonoididel on vähi-, viiruse- ja põletikuvastane toime. Tsitruste flavonoidide hulka kuuluvad hesperidiin ja naringiin ja flavoonid nobiletiin ja tangeritiin (Rafiq, et al., 2018).

Sidruni koore eeterliku õli flavonoidide hulka kuuluvad hesperidiin ja hesperetiin, millel on antioksüdantsed omadused (Klimek-Szczykutowicz, Szopa, & Ekiert, 2020).

1.2.2. Bioloogilised omadused

Sidruni koore eeterlike õlide bioloogilised toimed on antioksüdantsus, põletikuvastasus, antimikroobsus ja seenevastasus, mistõttu saab neid õlisid kasutada funktsionaalse komponentide ja säilitusainete allikana (Singh, Singh, Kaur, & Yadav, 2021).

Antibakteriaalsed ja seenevastased omadused

Eeterlikel õlidel on märkimisväärsed antimikroobsed omadused. Nende peamine omadus on hüdrofoobsus, mis võimaldab eeterlikel õlidel jaguneda bakterirakumembraani lipiidideks, mis lõhuvad bakterite struktuuri ja muudavad nad läbilaskvamaks. Seetõttu lekivad bakterirakust välja erinevad ionid ja paljud teised rakumolekulid, mis põhjustab bakterite elujõulisuse vähenemist ja surma (Hanif, Nisar, Ghufrana, Mushtaq, & Zubair, 2019).

Sidruni koore eeterlikus õlis sisalduvatel lenduvatel ühenditel nagu limoneen, terpineen, tsitraal, linalool ja karüofüleen on antibakteriaalsed omadused (Dao, Tran, Tran, & Lam, 2021). SKEÕ omab antibakteriaalset toimet toidu riknemisega seotud mikroobide vastu nagu bakterid, hallitused ja pärmid. Sellel on ka seenevastane toime, kuna vähendab või inhibeerib hallituste *Aspergillus flavus*'e, *Aspergillus niger*'i ja *Penicillium chrysogenum*'i ning pärmide *Saccharomyces cerevisiae* ja *Candida parapsilosis*'e kasvu (Singh, Singh, Kaur, & Yadav, 2021). D-limoneen, β-pineen ja tsitraal omavad inhibeerivat toimet *Aspergillus niger*'i, *Saccharomyces cerevisiae* ja *Candida parapsilosis*'e vastu. SKEÕ omab inhibeerivat toimet gram-positiivsete bakterite *Staphylococcus capitis*'e, *Micrococcus luteus*'e ning *Bacillus subtilis*'e ja gram-negatiivsete bakterite *Pseudomonas fluorescens*'i ja *Escherichia coli* vastu (Klimek-Szczykutowicz, Szopa, & Ekiert, 2020).

Antioksüdantsed omadused

Eeterlikel õlidel on suurepärased antioksüdantsed omadused, mis on seotud nende keemilise koostisega. Muskaatpähklist, tüümianist, kaneelist, piparmündist, basiilikust, nelgist, oreganost ja petersellist eraldatud EÕ-del on olulised antioksüdantsed omadused. Antioksüdantsed omadused

on ka fenoolsetel ühenditel karvakroolil ja tümoolil, mis oma redoksomaduste tõttu saavad neutraliseerida vabu radikaale ja lagundada peroksiide. EÖ-de antioksüdantne toime tuleneb ka muudest EÖ-des sisalduvatest ühenditest nagu alkoholid, ketoonid, aldehydid ja monoterpeenid (Hanif, Nisar, Ghufrana, Mushtaq, & Zubair, 2019).

Sidrunikoore fenoolsetel ühenditel on suurepärane antioksüdantne toime. Nimelt leevendavad sidrunikoore flavonoidid nahakahjustustega kaasnevat oksüdatiivset stressi, mida põhjustab ultraviolett-kiirgus. Sidrunikoorte fenoolühenditel ja eeterlikel õlidel on märkimisväärsed antioksüdantsed toimed, mistõttu on nad potentsiaalsed looduslikud antioksüdandid, mis võivad asendada keemilisi antioksüdante (Jiang, et al., 2022).

Põletikuvastased omadused

Põletik on tavaline kaitseraktsioon, mille põhjustab infektsioon või mistahes koekahjustus. Põletik aitab võidelda sissetungijate, näiteks organismis esinevate mikroorganismidega ning eemaldada kahjustatud või surnud peremeesrakud. Eeterlikke õlisid kasutatakse põletikuvastaste ainetena põletikuliste haiguste nagu artriit, allergia või reuma raviks. EÖ-des sisalduvad aktiivsed põletikuvastased ühendid inhibeerivad histamiini vabanemist ja redutseerivad mistahes põletikumediaatorite tootmist. Näiteks 1,8-tsineool, mis on paljude EÖ-de oluline koostisos, toimib leukotrieenide ja prostaglandiinide inhibiitorina. Eeterlike õlide põletikuvastane toime ei tulene mitte ainult eeterlike õlide antioksüdantsest toimest, vaid ka eeterlike õlide ja signaalikaskaadide vastastikmõjudest ning põletikku soodustavate geenide ekspressionist (Hanif, Nisar, Ghufrana, Mushtaq, & Zubair, 2019).

Uuringus viidi läbi formaliinitest hirte peal. SKEÖ kogusega 10 või 30mg/kg avaldas põletikuvastast toimet, vähendades rakkude migratsiooni, tsütokiinide tootmist ja karrageeni poolt indutseeritud valkude lekkimist veresoontest. Need efektid saadi ka sarnaste koguste puhta D-limoneeni kasutamisega. Teise uuringu kohaselt põhjustas D-limoneen soolepõletiku märkimisväärset vähenemist, mis on võrreldav ibuprofeeni toimega. Sidruni eeterliku õli põletikuvastane toime tuleneb seega D-limoneenist ja selle kõrgest kontsentratsioonist (Klimek-Szczykutowicz, Szopa, & Ekiert, 2020).

1.2.3. Eeterliku õli eraldamise viisid ja saagist mõjutavad parameetrid

Sidruni koore eeterliku õli ekstraheerimiseks kasutatakse vesidestilleerimist, veeaurudestilleerimist ja mehaanilist külmpressimist (Singh, Singh, Kaur, & Yadav, 2021). Destilleerimine on kõige laialdasemalt kasutatav meetod aromaatsete ühendite ekstraheerimiseks (Mahato, Sharma, Koteswararao, Sinha, & Baral, 2017). Vesi- ja aurudestilleerimine on aja- ja energiamahukad protsessid (Singh, Singh, Kaur, & Yadav, 2021).

Külmpressimine

Külmpressimist kasutatakse EÖ-de ekstraheerimiseks tsitrusitest nagu sidrun, apelsin, bergamott ja greip (Hanif, Nisar, Ghufrana, Mushtaq, & Zubair, 2019). Pressitakse kas terve vili või ainult vilja koore kollane osa. Üldiselt on koore külmpressimise saagis väga väike, kuid meetod on odavam kui vesi- ja aurudestillatsioon, kuna ei vaja energiat materjali kuumutamiseks (Teigiserova, Tiruta-Barna, Ahmadi, Hamelin, & Thomsen, 2021). SEÖ saagis on 0,1-0,2% kg vilja kohta (Bousbia, Vian,

Ferhat, Meklati, & Chemat, 2009). Eureka SKEÖ saagis on $0,37 \pm 0,01\text{g}/100\text{g}$ koore kohta (Lu, Huang, Peng, Zhu, & Pan, 2019).

Külmäpressimise teel purustatakse tsitruse õlikotid ja -näärmed, et eraldada eeterlik öli. Saadav vilja mahla vesine emulsioon tsentrifugitakse, et eraldada õlifaas ja mahl ehk veefaas. Külmäpressimise meetodil ekstraheeritud eeterlik öli on naturaalse aroomiga ning õli keemiline koostis ei ole muutunud (Singh, Singh, Kaur, & Yadav, 2021). Külmäpressimise puuduseks on madal saagis, mis võib olla põhjustatud kolloidosakeste ja eeterliku õli emulgeerumisest (Lu, Huang, Peng, Zhu, & Pan, 2019).

Veeaurudestillatsioon

Eeterliku öli eraldamine toimub kahe segunematu vedeliku - vee ja eeterliku õli – destilleerimisel lähtudes põhimõttest, et keemistemperatuuril on kombineeritud aururöhk võrdne ümbritseva keskkonna röhuga. Seega aurustuvad eeterlike õlide koostisosad, mille keemistemperatuur on tavaiselt vahemikus $200\text{--}300^\circ\text{C}$, vee keemistemperatuurile lähedasel temperatuuril (Ferhat, Meklati, & Chemat, 2007).

EÖ komponentide sisaldus sõltub nende eraldamisest destillaadi õli- ja veefaasi vahel. Polaarsete komponentide kadu destillaadi vesilahuses on destilleerimisprotsessi puuduseks. Vesifaas destilleeritakse uuesti, et taastada lahustunud õlikomponendid, mis suurendab ekstraheerimisprotsessi maksumust (Singh, Singh, Kaur, & Yadav, 2021). Veeauru- ja vesidestillatsiooni puudusteks on ka protsesside kõrge temperatuur ja pikk ekstraktsiooniaeg, mis võivad põhjustada eeterliku õli ühendite muutusi ja kadu (Ferhat, Meklati, & Chemat, 2007).

Veeaurudestillatsiooni (VAD) peetakse ökonomsemaks viisiks tsitruste koore eeterlike õlide ekstraheerimisel, kuna see annab parema saagise (1,51%) vörreldes külmäpressimisega (Teigiserova, Tiruta-Barna, Ahmadi, Hamelin, & Thomsen, 2021).

EÖ ekstraheerimiseks VAD-il asetatakse taimne aine klaaskolонni, mille kõrgem osa on ühendatud jahutiga ja alumine vett sisaldava kolviga. Kolvis tekkiv veeaur läbib taimse materjali ja küllastub eeterliku öli ühenditega. Seejärel liiguvalt aurud jahutisse, kus nad kondenseeruvad (Boutekedjiret, Bentahar, Belabbes, & Bessiere, 2003). Kondenseerunud aurud kogutakse spetsiaalsesse anumassee, mida nimetatakse Florentiini kolviks (Mahato, Sharma, Koteswararao, Sinha, & Baral, 2017). Kuna EÖ on veest kergem, siis jäab see vee peale hõljuma ning on kergesti eraldatav (Ferhat, Meklati, & Chemat, 2007). EÖ eraldatakse veest dekanteerimise teel (Boutekedjiret, Bentahar, Belabbes, & Bessiere, 2003).

Vesidestillatsioon

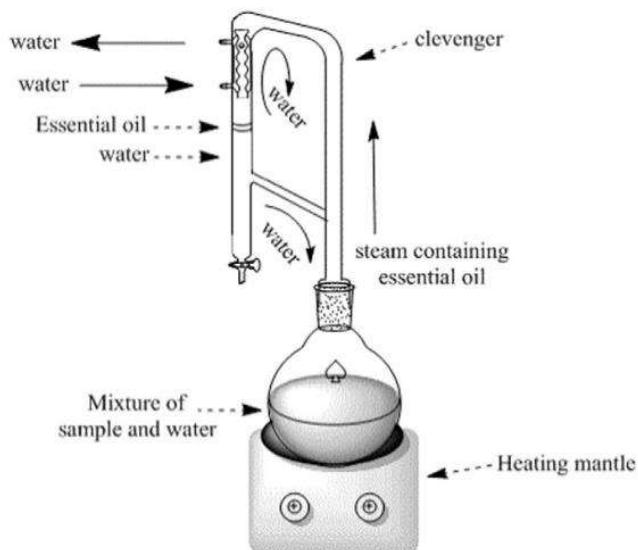
Vesidestillatsioon (VD) on suures osas sarnane veeaurudestillatsiooniga. Erinevus on see, et taimne materjal on otseks kokkupuutes veega. Destillatsioonikolvis olev taimse materjali ja vee segu kuumutatakse pliidil keemiseni. Taimses materjalis olev eeterlik öli ja vesi aurustuvad ning läbivad jahuti, kus aurud kondenseeruvad. Vastuvõtukolvis eralduvad õli- ja veefaas (Boutekedjiret, Bentahar, Belabbes, & Bessiere, 2003).

Vesidestillatsiooni meetodi puudused on potentsiaalne eeterliku õli ühendite hüdrolüüs pikajalise kontakti töttu taimse materjali ja vee vahel ning suur energiakulu, mis on vajalik vee

soojendamiseks ja lenduvate ühendite aurustamiseks (Teigiserova, Tiruta-Barna, Ahmadi, Hamelin, & Thomsen, 2021).

Proovi ettevalmistamisel on oluline eemaldada sidruni koore valge osa, kuna see sisaldab vähe eeterlikku õli või üldse mitte (Dao, Tran, Tran, & Lam, 2021).

Vesidestillatsioonil põhjustab süsteemi temperatuuri tõus rõhu kõrgenemist taime eeterlikku õli kandvates organites, mille tagajärjel saab rakusein vigastada ning eeterlik õli saab vabaneda. EÕ difundeerub materjali seest välispinnale ning kantakse edasi auruga. EÕ vesidestilleerimine viakse läbi Clevengeri seadmes (Dao, Tran, Tran, & Lam, 2021). Clevengeri seadet on kujutatud joonisel 1. Artiklis leiti, et 5 tundi kestval vesidestillatsioonil oli Eureka SKEÕ saagis vee-materjali suhte 5:1 korral $0,54 \pm 0,03\text{g}/100\text{ g}$ (Lu, Huang, Peng, Zhu, & Pan, 2019). Teises artiklis mainiti, et 3 tundi kestval vesidestillatsioonil vee-materjali suhte 6:1 korral oli Villa Franca SKEÕ saagis $0,34\text{ g}/100\text{ g}$ ja Eureka SKEÕ saagis $0,16\text{g}/100\text{g}$ kohta (Bousbia, Vian, Ferhat, Meklati, & Chemat, 2009).



Joonis 1. Vesidestillatsiooni süsteem Clevengeri seadmega. Süsteem koosneb soojusallikast, aurutuskolvist, Clevengeri seadimest ja jahutist. Aurutuskolbi lisatakse uuritav taimne materjal ja destilleeritud vesi, mida kuumutatakse soojusallikaga. Taimse materjali lenduvad ühendid ja vesi aurustuvad ning liiguvad mööda Clevengeri seadet üles jahutisse. Jahutis ringleb külm vesi pidevalt, sisenedes jahuti alumisest avast ja väljades ülemisest. Jahutis kondenseeruvad aurud vedelikeks ja eralduvad kahe kihina nii, et eeterlik õli moodustab pealmise ja hüdrosool alumise kihि (Samadi, et al., 2017). Clevengeri seade võimaldab hüdrosooli tagasisooku aurutuskolbi ja selle uesti destilleerimist (Sadgrove & Jones, 2015).

Vesidestillatsiooni efektiivsust mõjutavad parameetrid

Vee ja materjali suhe on üks olulisemaid parameetreid, mis mõjutab vesidestillatsiooni efektiivsust. Artiklis eraldati laimi koore eeterlik õli VD-i teel ning arutleti vee-materjali suhte mõju üle saagisele. Leiti, et parim vee-materjali suhe on 3:1. Selle suhte puhul oli EÕ saagis kõrgeim – $3,9\text{ml}/100\text{g}$ koore kohta. Laimi koore eeterliku õli saagis vee-materjali suhte 4:1 korral oli $3,2\text{ml}/100\text{g}$. Järeldusena toodi välja, et mida suurem on vee kogus, seda rohkem energiat kulub vee kuumutamisele, mis omakorda vähendab EÕ saagist (Dao, Tran, Tran, & Lam, 2021).

Teine vesidestillatsiooni efektiivsust mõjutav parameeter on ekstraktsiooniaeg. Ekstraktsiooniaeg peab olema piisavalt pikk, et EÕ taimsest materjalist täielikult eraldada. Piisava aja teadasaamiseks

mõõdeti destillatsiooni efektiivsust ekstraktsiooni algusest lõpuni. Pärast 70-ne minuti möödumist saadi maksimaalne eeterliku õli saagis (3,9ml/100g). Üldiselt võtab EÖ eraldamine 60 minutit, kuid 70 minutit kestev eraldamine kindlustab kogu EÖ eraldumise taimsest materjalist. Ekstraktsiooniaeg sõltub suuresti vee-materjali suhest ning pikeneb kui vee-materjali suhe on suur (Dao, Tran, Tran, & Lam, 2021).

Eeterliku õli saagist mõjutavad tegurid

Tsitruste liikide erinevatel sortidel võivad olla erinevad eeterliku õli sisaldused ja koostised. Lisaks mõjutavat vilja EÖ sisaldust ka geograafilised aspektid (mulla kvaliteet, toitainete kättesaadavus, keskkonna kliima ja sademete kogus). *Albedo* ja *flavedo* suhe mõjutab niiskusesisaldust ja seeläbi ka eeterliku õli saagist. *Albedo* võib oma käsnja struktuuri tõttu imada endasse *flavedo*'s olevat eeterlikku õli. Õhemast *flavedo*'st on võimalik eraldada rohkem eeterlikku õli (Teigiserova, Tiruta-Barna, Ahmadi, Hamelin, & Thomsen, 2021).

1.2.4. Hüdrolaadid

Hüdrolaadid ehk hüdrosoolid ehk lilleveed saadakse taimedest destilleerimise käigus. Destilleerimise käigus eraldub taimsest materjalist eeterlik õli ja hüdrolaat. EÖ jäääb hüdrolaadi pinnale hõljuma (Festy, 2019). Hüdrolaatides lahustub väike kogus eeterlike õlide koostisaineid, nimelt hapnikuga rikastatud ühendid, mis annavad hüdrolaadile spetsiifilised organoleptilised omadused ja maitse ning bioloogilise aktiivsuse, mis muudab hüdrolaadid kasulikuks toiduainetööstuses ja kosmeetikatööstuses kasutamiseks (Aćimović, et al., 2020).

Hüdrolaadid on happelised vedelikud, mille pH on vahemikus 4,5–5,5. Neil on meeldiv eeterliku õliga sarnane lõhn. Hüdrolaatide lenduvad komponendid on peamiselt monoterpeenalkoholid, aldehydid, ketoonid ja seskviterpeenalkoholid, mis on väga polaarsed ühendid (Aćimović, et al., 2020). Kuna hüdrolaatides on taime bioaktiivsete ainete kontsentratsioon palju väiksem kui eeterlikus õlis, võib neid kasutada lajhendamata (Festy, 2019). Hüdrolaate saab kasutada näo- ja kehaspreidena jahutava ja värskendava efekti saavutamiseks. Hüdrolaadid asendavad kosmeetikas üha enam vett, pakkudes täiendavaid toimeaineid. Hüdrolaate kasutatakse vesifaasina losjoonide, kreemide ja seepide valmistamisel või iseseisvalt toonikute ja õhuvärskendajatena. Hüdrolaatide kasutamine toorainena kosmeetikatööstuses vähendab nii reovee ärajuhtimise kulusid kui ka keskkonnakoormust, kuna neid ei paisata enam keskkonda. Traditsiooniliselt kasutatakse hüdrolaate jookidena ja toiduainetes. Näiteks juuakse Türgis salvei destilleerimisel saadud hüdrolaati loodusliku antibiotikumina erinevate bakteriaalsete haiguste ja seedehäirete vastu (Aćimović, et al., 2020).

1.2.5. Eeterliku õli koostise analüüsamine

Eeterlike õlide kvalifitseerimine ja kvantifitseerimine on vajalik, et tagada nende hea kvaliteet (Hanif, Nisar, Ghufrana, Mushtaq, & Zubair, 2019). Tänapäevased meetodid eeterlike õlide uurimiseks on gaaskromatograafia (GC) ja gaaskromatograafia-massispektromeetria (GC-MS). EÖ-de analüüsi eesmärk on saavutada parim võimalik eraldusjõudlus. EÖ-de koostise analüüsime läbi saab näiteks üht õli võrrelda teise õliga kvaliteedikontrolli või võltsimise uurimise eesmärgil, uute komponentide avastamise või olemasolevate ühendite keemiliste klasside iseloomustamise

eesmärgil. Uuritava materjali koostisosad eraldatakse GC abil ning identifitseeritakse MS abil (Marriott, Shellie, & Cornwell, 2001).

GC-MS-t saab kasutada vedelate, gaasiliste või tahkete proovide uurimiseks. Analüüs algab GC-ga, kus proov aurustatakse gaasifaasi ja eraldatakse selle erinevateks komponentideks statsionaarse faasiga kaetud kapillaarkolonni abil. Ühendeid liigutab inertne kandegaas nagu helium, vesinik või lämmastik. Segu komponentide eraldamisel elueerub iga ühend kolonnist erineval ajal lähtudes ühendi keemistemperatuurist ja polaarsusest. Elueerimise aega nimetatakse ühendi retentsioonijaks. GC on võimeline lahutama sadu ühendeid sisaldavaid keerulisi segusid (Thermo Fischer Scientific, kuupäev puudub).

Kui komponendid gaaskromatograafia kolonnist lahkuvad, ioniseeritakse ja fragmenteeritakse need massispektromeetriaga. Seejärel kiirendatakse ioniseeritud molekule ja fragmente massianalüsaatori abil, mis sageli on kvadrupool või ioonlöks. Massianalüsaatoris eraldatakse ioonid nende massi ja laengu suhte alusel. Fragmenteerunud ioonid ilmuavad nende massi ja laengu suhte funksioonina. Proovi eraldamisel gaaskromatograafia-massispektromeetriiga tekivad gaaskromatogrammis piigid, kus iga piik loob ainulaadse massispektri, mida kasutatakse ühendi tuvastamiseks. Piigi pindalad on võrdelised vastava ühendi kogusega. Laialdaste kaubanduslikult saadavate massispektrite raamatukogude abil saab tuvastada ja kvantifitseerida tundmatuid ühendeid ja sihtanalüüte (Thermo Fischer Scientific, kuupäev puudub).

Artiklis viidi läbi Eureka sidruni koore eeterliku öli koostise analüüs kasutades gaaskromatograafia-massispektromeetriat. Kasutatud seade oli Hewlett-Packard'i süsteem, mis koosnes gaaskromatograafist Agilent 6890 ja massispektromeetrist 5973A. Kasutatud kolonn oli HP5MS apolaarne kapillaarkolonn (pikkus 30m, sisediameter 0,25mm, kile paksus 0,25 μ m). Süsteemi algtemperatuur oli 60°C ja lõpptemperatuur 250°C. Kandegaasina kasutati heliumit. Voolamise kiirus oli 0,3ml/min. Süstitud proovi maht ja temperatuur olid vastavalt 1 μ l ja 250°C. Kasutati splitless režiimi. Ionisatsiooni pingi oli 70eV (Ferhat, Meklati, & Chemat, 2007). Teises artiklis, kus uuriti samuti SKEÖ koostist, anti informatsiooni ka proovi analüüsiks ettevalmistamise kohta. Nimelt lahustati 30 μ l eeterlikku öli 1ml heksaanis (Manaila, et al., 2016). Analüüsi tulemused on toodud lisas 1 tabelis 1 (Ferhat, Meklati, & Chemat, 2007).

1.2.6. Eeterlike õlide kasutamine

Eeterlikke õlisid kasutatakse kosmeetikatööstuses, aroomiterapias sealhulgas massaažis, inhalatsioonides ja vannides. EÖ-d maskeerivad ebameeldivat lõhma. Samuti on nad väga olulised ravimpreparaatide koostisosad. Viimasel ajal on EÖ-d kui looduslikud antimikroobsed ained pälvinud toiduainetööstuses suurt tähelepanu, sest tarbijate nõudlus toiduainete ohutusele on suurenenud (Mahato, Sharma, Koteswar Rao, Sinha, & Baral, 2017).

Kosmeetikatööstus

Eeterlikud õlid on laialdaselt kasutusel nahahooldustoodetes nende aktiivsete ühendite bioloogiliste toimete ja tugevalt lõhnavate omaduste töttu. Eeterlikud õlid on kosmeetikatoodetes kasutusel ka looduslike säilitusainetena tänu nende antimikroobsetele omadustele. Eeterlikke õlisid kasutatakse kosmeetikatoodetes, kuna neil on kasulikud toimed naha jaoks. Nimelt on EÖ-d akne- ja vananemisvastase, nahka helestava ja päikesekaitset andva toimega (Sharmeen, Mahomedally,

Zengin, & Maggi, 2021). Teaduslikud uuringud on näidanud SEÕ olulist antioksüdantset toimet, mistõttu soovitatakse neid kasutada vananemisvastases kosmeetikas (Klimek-Szczykutowicz, Szopa, & Ekiert, 2020).

Kosmeetikatoodete tootmisprotsessis kasutatavatel rasvhapetel, rasvõlidel ja pindaktiivsetel ainetel on sageli ebameeldiv lõhn, mistõttu lisatakse nendele toodetele parfüümiseagusid (Sarkic & Stappen, 2018). Paljud tööstused kasutavad sünteetilisi lõhnaineid ka selleks, et jälgendada looduslike taimsete õlide aromaatseid ja keemilisi koostisosii, mille tootmine on kallim. Sünteetilised lõhnained sisaldavad hormoonsüsteemi kahjustavaid ftalaate ja kantserogeeniseid benseeni derivaate (Sharmeen, Mahomoodally, Zengin, & Maggi, 2021).

Tsitruste koore eeterlikul õil on meeldivad senoorsed omadused ja see on rikkalik bioloogiliselt aktiivsete ühendite allikas. Tsitrusvlijade koore eeterlik õli leevendab valu ja põletikku. SKEÕ kasutatakse kui lõhnainet, mida lisatakse parfüümide, tualettseepide, kosmeetika ja muude kehahooldustoodete sisse, et anda neile tujutõstev ja värskendav efekt (Singh, Singh, Kaur, & Yadav, 2021).

EÕ-de antimikroobse ja seenevastase toime tõttu ei vaja kosmeetilised tooted nagu kreemid, geelid ja salvid tingimata täiendavat keemilist säilitusainet, kui need sisaldavad toimeainena eeterlikku õli või selle üksikut komponenti. Anitmikroobse toime tõttu kasutatakse kosmeetikatoodetes näiteks rosmariini- ja eukalüptiõli. Kuna EÕ-d koosnevad peamiselt väikestest lipofüsilsetest molekulidest, võivad need kergesti tungida läbi nahale ja avaldada seal möju (Sarkic & Stappen, 2018).

Aroomiterapia

Aroomiterapia on üks täiendavaid ravimeetodeid, mida kasutatakse paljude haiguste raviks kasutades peamiste raviainetena eeterlikke õlisid. EÕ-sid manustatakse väga väikeses koguses (Bhavanirama, Vishnupriya, Al-Aboody, Vijayakumar, & Baskaran, 2019). Eeterlike õlide sissehingamine, nende kandmine nahale massaaži osana ja vanniveele lisamine on peamised aroomiterapias kasutataavad lähenemisviisid. Aroomiterapiat kasutatakse, et saada leevendust mitmetele vaevustele nagu seedehäired, depressioon, unetus, ärevus, peavalu, hingamisprobleemid, lihasvalu, liigeste turse, nahahaigused (Hanif, Nisar, Ghufrana, Mushtaq, & Zubair, 2019).

EÕ-des leiduvad lenduvad ühendid nagu ketoonid ja aldehydid mängivad aroomiterapias võtmerolli, kuna nende ühendite sissehingamine aitab vähendada vaimset ja füüsillist stressi; on tõestatud leevendav toime mikroobsete infektsioonide, südame-veresoononna ja vähihaiguste ning sünnitusvalu puhul (Bhavanirama, Vishnupriya, Al-Aboody, Vijayakumar, & Baskaran, 2019).

Uuringus vaadeldi 0,5 ja 1,0% D-limoneeni inhalatsiooni toimet hirte peal. D-limoneeni inhalatsioon omas rahustavat ja ärevust vähendavat toimet aktiveerides serotoniini ja dopamiini retseptoreid. Lisaks on D-limoneenil valuretseptoreid inhibeeriv efekt (Klimek-Szczykutowicz, Szopa, & Ekiert, 2020).

Toiduainetööstus

Lõhna, maitse ja loodusliku antimikroobse toime tõttu kasutatakse eeterlikke õlisid peamiselt toiduainetööstuses toiduainete säilitamiseks ja nende maitsestamiseks. EÕ-des sisalduvad

monoterpeenid, seskviterpeenid ja hapnikuga rikastatud derivaadid omavad tugevat inhibeerivat toimet patogeensete bakterite vastu, mistõttu sobivad eeterlikud õlid säilitusainetena ja antioksüdantidena kasutamiseks (Bhavaniramya, Vishnupriya, Al-Aboody, Vijayakumar, & Baskaran, 2019).

Tootjad ja tarbijad on juba aastaid kasutanud toiduainetööstuses sünteetilisi säilitusaineid, kuid sünteetiliste säilitusainete kasutamine ja nende tarbimine võivad põhjustada allergilisi mõjusid, mürgistusi, vähki ja muid degeneratiivseid haigusi. Sel põhjusel on vaja otsida muid alternatiive. Viimastel aastatel on toiduainetööstused kasutanud eeterlikke õlisid, kuna need suudavad kontrollida patogeensete mikroorganismide kasvu (Bhavaniramya, Vishnupriya, Al-Aboody, Vijayakumar, & Baskaran, 2019).

Tsitruste eeterlikust õlist isoleeritud linalooli ja tsitraali kasutatakse lõhna- ja maitseainena ning loodusliku säilitusainena nende antimikroobse ja seenevastase toime tõttu. Eelkõige kasutatakse neid sageli mereandide lühikese säilivusaja pikendamiseks ja teatud tüüpi juustu tootmisel, sest need vähendavad märkimisväärset mikroorganismide populatsioone, eriti perekonnast *Enterobacteriaceae* (Klimek-Szczykutowicz, Szopa, & Ekiert, 2020).

Eeterikes õlides sisalduvad fenoolsed ühendid mitte ainult ei kaitse liha, kala ja töödeldud tooteid mikroobse riknemise eest, vaid ka lipiidide oksüdatiivse lagunemise eest. Nende toiduainete tavapärase säilitamismeetodite hulka kuuluvad soolamine, jahutamine, kiiritamine ja keemiliste säilitusainete lisamine. Kiirtamisel on puudusteks toidu värvuse muutumine ja valkude lagunemine ning see nõuab kunstlike säilitusainete lisamist (Mahato, Sharma, Koteswararao, Sinha, & Baral, 2017).

Tsitruseõlid on oma meeldiva lõhna, maitse ja antimikroobse toime tõttu väga hinnatud koostisosad. Karastusjookide tööstus on suurim eeterlike õlide, eriti tsitrusviljade EÖ-de kasutaja. Teised olulised kasutajad on maiustuste, piima- ja kondiitritoodete, magustoitude, alkohoolsete jookide, aga ka kiir- ja töödeldud toitude tootjad (Sharmeen, Suroowan, Rengasamy Kannan, & Fawzy Mahomoodally, 2020).

Artiklis viidi läbi katse, kus uuriti sidruni eeterliku õli vastuvõetavust toiduretseptides sidrunimaitse alternatiivina või tugevdajana. Toidu- ja toitumistudengite seas viidi läbi pime-eelistustest ja kolme sidrunit sisaldava retsepti (vinegrett, tassikoogid, limonaad) sensoorne hindamine. Osalejad maitsesid igast retseptist kahte proovi: üks proov sisaldas ainult värsket sidrunimahla ja teine sidruni eeterlikku õli kas sidrunimahla asendajana või maitsetugevdajana koos sidrunimahlagaga. Seejärel valisid osalejad iga retsepti jaoks eelistatud proovi ja viisid läbi sensoorse hindamise. Uuringu tulemused näitasid kõigi SEÖ proovide olulist eelistamist. 80% osalejatest eelistas SEÖ vinegretti, 73% SEÖ tassikooke ja 73% SEÖ limonaadi. Valik tehti sidruni maitse ja aroomi põhjal. Uuring näitab SEÖ vastuvõetavust sidruni maitse asendajana või tugevdajana (Sharmeen, Suroowan, Rengasamy Kannan, & Fawzy Mahomoodally, 2020).

TKEÖ-sid saab potentsiaalselt kasutada antimikroobsete pakendite või söödavate katete väljatöötamiseks, et suurendada nende materjalide toidu säilitamise võimekust (Mahato, Sharma, Koteswararao, Sinha, & Baral, 2017).

Meditsiinalased toimed

Eeterlikel õlidel on raviomaduste tõttu oluline osa meditsiinivaldkonnas. Mitmetel EÕ-del on fungitsiidne, antidepressantne, antibakteriaalne, stimuleeriv ja lõõgastav toime ning neid saab kasutada tõhusa raviainena. EÕ-sid kasutatakse mitmete patogeensetest ja mittepatogeensetest haigustest põhjustatud infektsioonide raviks. Näiteks küüslaugu EÕ alandas oluliselt seerumi kolesterooli ja triglütseriidide taset, tõstes koronaarse südamehaigusega patsientidel lipoproteiinide taset. Mõned eeterlikud õlid on hüpotensiivse toimega ja neid kasutatakse hüpertensiooni raviks. EÕ-d ja nende individuaalsed aroomikomponendid (seskviterpeeni süsivesinikelemendid, limoneen) näitasid vähivastaseid omadusi ning neid kasutatakse rinnavähi, kasvajate, leukeemia ja glioomi ravis (Hanif, Nisar, Ghufrana, Mushtaq, & Zubair, 2019).

Sidruni eeterlik õli ergutab vereringet, tugevdades veresoonte seinu ja muutes need elastsemaks. Lisaks ergutab SEÕ immuunsüsteemi ning parandab seedimist (Festy, 2019). Uuringud on näidanud, et D-limoneen suurendab mao motoorikat ja vähendab iiveldust, neutraliseerib maohappeid ja leevedab mao refluksi (Klimek-Szczykutowicz, Szopa, & Ekiert, 2020). Antiseptiliste omaduste tõttu kasutatakse seda ülemiste hingamisteede nakkustega võitlemiseks (Festy, 2019).

Sidruni koore eeterliku õli funktsionideks on veel triglütseroolide ja madala tihedusega lipoproteiinide (LDL) taseme alandamine, kõrge tihedusega lipoproteiini (HDL) taseme tõstmine veres, kolesterooli ja arahhidoonhappe taseme alandamine maksaensüümide ja tsütokroomide stimuleerimise kaudu (Klimek-Szczykutowicz, Szopa, & Ekiert, 2020).

Olmekeemia

Nagu kosmeetikatooted, võivad ka kodus kasutatavad puastusvahendid sisaldada mürgiseid kemikaale, mis võivad organismi immuunsust mõjutada. Need kemikaalid võivad põhjustada ärritust ja põletikku, millega võivad kaasneda haigused ja kasvajad. Traditsioonilised kodumajapidamises kasutatavad puastusvahendid sisaldavad tugevaid ja kahjulikke, mürgiseid kemikaale nagu lõhnained, antibakteriaalsed ained ja poleerimisained, mis võivad põhjustada vesiseid silmi, aevastamist, köha, peavalu, maoärritusi ning tõsiseid ja pikaajalisi haiguseid, sealhulgas hingamiraskust, reproduktiivsüsteemi häireid, hormoonide häireid ja vähki. Eeterlikud õlid võivad asendada neid potentsiaalselt mürgiseid koostisaineid, omades samal ajal antibakteriaalseid, desodoreerivaid, rasvaeemaldavaid ja meeldivalt aromaatseid omadusi. Kõige levinumad looduslikud ja ohutud puastusvahendid on valge äädikas, söögisooda ja vedel nõudepesuseep. Teadaolevalt aitavad need tooted desodoreerida, eemaldada kogunenud mustust ja rasva, mineraalide ladestusi ja plekke. Nende lihtsate koostisosade puastusvõimet saab veelgi suurendada EÕ-de lisamisega (New Directions Aromatics, 2019).

1.2.7. Ohutus

Eeterlikel õlidel on taime vöi ürdi väga kontsentreeritud omadused. Väga väikese hulga EÕ-de omadused on võrsed samast taimest pärit mitme tassi taimeteega. Näiteks on üks tilk piparmündi eeterlikku õli vörreldav 26–28 tassi piparmünditeega. See tähendab, et neid õlisid tuleks kasutada väga ettevaatlikult ja ohututes kogustes (Hanif, Nisar, Ghufrana, Mushtaq, & Zubair, 2019).

Sidruni eeterlikku õli ei tohiks kasutada suures kontsentratsioonis otse nahal peal või vannivees. SEÕ-s sisalduv D-limoneen mõjub nahale ärritavalt ja võib allergiat tekitada. SEÕ sisaldab fotosensitiivseid ühendeid bergapteeni ja oksüpeutsedaniini, mis kuuluvad furanokumariinide grupperi. Seega ei tohi pärast sidruni eeterlikku õli pealekandmist päikesevalguse käes olla (Klimek-Szczykutowicz, Szopa, & Ekiert, 2020).

1.2.8. Eeterlike õlide hoiustamine

Eeterlikke õlisid hoiustatakse tavaliselt väikestes tumedates klaaspudelites. Klaaspudelid on toonitud, et takistada kokkupuudet valgusega, mis võib põhjustada EÕ-de oksüdeerumist ja lõhnainete ning raviomaduste vähenemist. Levinumatud pudelivärv on merevaigukollane ja koobaltsinine. Pudelid peavad olema korgiga tihedalt suletud, kuna kokkupuude õhuga põhjustab EÕ-de oksüdeerumist. Lõdvalt keeratud korgi tõttu võivad eeterlikud õlid aurustuda. Eeterlikke õlisid on optimaalne hoida päikesevalguse eest kaitstult, jahedas ja kuivas stabiilse temperatuuriga kohas. EÕ-sid võib hoida külmkapis, et vältida kokkupuudet õhu, otsese päikesevalguse ja kõikuvate temperatuuridega. Sel juhul on optimaalne temperatuur vahemikus 5–10°C. EÕ-sid ei tohi sügavkülmikus hoida, kuna külmutamine võib õli kvaliteeti kahjustada. EÕ-sid tuleks hoida eemal soojusallikatest, nagu pliit ja küünlad, kuna nad võivad süttida (New Directions Aromatics, 2017).

2. Töö eesmärk

Töö eesmärgid on eraldada sidruni koorest eeterlik õli kasutades vesidestillatsiooni meetodit ja uurida eraldatud eeterliku õli koostist gaaskromatograafia-massispektromeetriaga. Töös võrreldakse kahe Primofiori sidruni eeterliku õli saagist ja koostist omavahel ning ka kirjandusallika tulemustega. Töös arutletakse, milles on tingitud eeterliku õli saagise ja koostise erinevused.

Antud töös püstitatud hüpotees on see, et uuritud sidrunite koore eeterliku õli saagised on erinevad ja koostised ühesugused.

3. Eksperimentaalne osa

Töös võrreldakse kahte sidrunit. Mõlema sidruni päritolumaa ja sort on vastavalt Hispaania ja Primofiori. Sidrunid on pärit erinevatest poodidest. Sidrun 1 on ostetud Selverist ja sidrun 2 Rimist. Katsete tegemise periood: 22.02 – 13.05.2022.

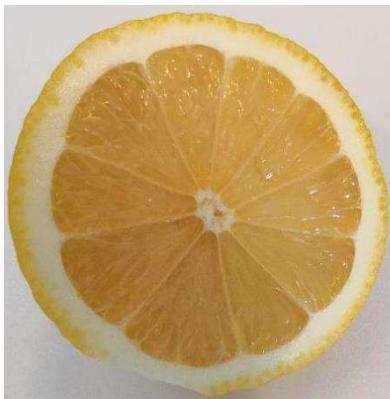
3.1. Kasutatud materjalid ja reagendid

Sidrun 1, sidrun 2, 100% etanool, n-heksaan.

Sidrun 1 üldist välimust illustreerib joonis 2. Sidrun 1 koore mõõtmeid illustreerib joonis 3. Sidrunil on ovaalne kuju, tsitriinkollane koor. Vilja väljaulatuv tipp on terav. Koor on tuhm ja krobeline. Sidruni välimus kattub Primofiori sordi juures toodud kirjeldusega.



Joonis 2. Sidrun 1

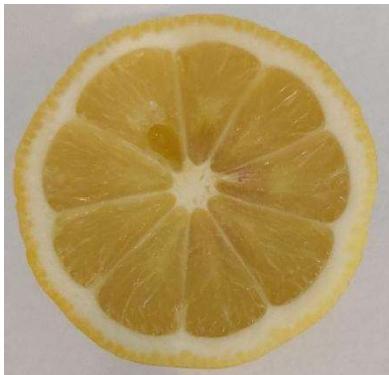


Joonis 3. Sidrun 1 läbilõige

Sidrun 2 üldist välimust illustreerib joonis 4. Sidrun 2 koore mõõtmeid illustreerib joonis 5. Sidrun on kerakujuline. Võrreldes sidrun 1-ga on sidrun 2 koor kollasem ja siledam. Vilja väljaulatuv tipp on veidi nõgusam kui sidrunil 1. Sidrun 2 koore välimus erineb Primofiori sordi kirjelduses tooduga. Primofiori sidruni koor on heleroheline kuni tsitriinkollane, kuid sidrun 2 koor on pigem kollane.



Joonis 4. Sidrun 2



Joonis 5. Sidrun 2 läbilõige

Sidrunite koore mõõtmed on toodud tabelis 2. Sidrunil 1 on nii koore *flavedo* kui ka *albedo* osa pea kaks korda paksem kui sidrunil 2.

Tabel 2. Sidrunite koore mõõtmed

Proov	<i>Flavedo</i> paksus, mm	<i>Albedo</i> paksus, mm	Koore paksus, mm
Sidrun 1	2,0	4,0	6,0
Sidrun 2	1,0	2,5	3,5

3.2. Meetodid

3.2.1. Vesidestillatsioon

Sidruni koore eeterlik õli eraldatakse vesidestillatsiooni meetodil Clevengeri seadmega. Vesidestillatsiooni läbiviimiseks kooritakse sidrun ning kasutatakse ainult koore kollast osa. Sidruniga 1 viidi läbi neli ja sidruniga 2 kolm destillatsiooni. 50g sidruni koort kaalutakse tehnilise kaaluga (Mettler Toledo) täpsusega 0,01g koepurustaja anumasse (Nutribullet) ning lisatakse 150g destilleeritud vett. Sidrunikoor koos destilleeritud veega purustatakse. Koepurustaja tera ja anum loputatakse sidrunikoore jäagist 100g destilleeritud veega ning lisatakse klaaslehtri abil proovisegule. Vee-materjali suhe on seega 5:1. Segu valatakse 1000ml koonilisse kolbi ning pannakse valmis Clevengeri destillatsiooniseade. Segu kuumutatakse lauapealse elektripliidi abil keemiseni maksimaalsel kuumuseastmel 5. Keema hakkamisel alandatakse kuumuse aste 1,5-ni. Destilleerimisprotsessi pikkus on 70 minutit. Seejärel lülitatakse soojusallikas välja ja oodatakse, kuni segu on jahtunud. Eeterlik õli ja hüdrolaat kogutakse klaasist kaalutopsi ning oodatakse kuni kihid on eraldunud teineteisest. Merevaigukollane toonitud viaal (DoTerra) kaalutakse. Hüdrolaat

eemaldatakse 1ml süstлага ning viiakse üle plastikust katseklaasi. Süstal puhastatakse etanooliga. Eeterlik õli eemaldatakse süstлага ning viiakse üle toonitud viaali. Viaal kaalutakse uuesti, et arvutada eeterliku õli saagis.

Eeterliku õli saagis arvutatakse valemiga (Dao, Tran, Tran, & Lam, 2021):

$$Y = (V / W) * 100,$$

kus Y on EÕ saagis, %

V on EÕ kogus, g

W on sidrunikoore kaalutis, g

3.2.2. Sidruni koore eeterliku õli koostise analüüs

Eeterliku õli koostise analüüs viiakse läbi analoogselt eeterliku õli koostise analüüsi peatükis toodud meetodiga (Ferhat, Meklati, & Chemat, 2007). Igat proovi analüüsiti üks kord. Proovi analüüsimise pikkus oli 32,5 minutit. Kasutatud seade oli gaaskromatograaf Agilent 7890A ja massispektromeeter 5975C. Kolonn oli Zebron-5MS apolaarne kapillaarkolonn (pikkus 30m, sisediameteer 0,25mm, paksus 0,25 μ m). Katse tingimused olid järgmised: 30 μ l proovi lahustati 1ml n-heksaanis. Süsteemi alg- ja lõpptemperatuur olid vastavalt 35 ja 300°C. Proovi jagunemise suhe (split-režiim) oli 40:1. Kandegaasina kasutati heeliumit. Süsteemi röhk oli 16,1 psi. Süsteemi süstitud proovi maht ja temperatuur olid vastavalt 1 μ l ja 300°C. Proovi voolamise kiirus oli 1,3ml/min. Katse käigus olid MS parameetrid järgmised: ionisatsiooni pinge 70eV, massi vahemik 10-350Da ning ioonialika temperatuur 230°C.

Seadmele vastava tarkvara abil (Agilent MassHunter Qualitative Analysis) uuriti kromatogrammis välja joonistunud piike. Piigid integreeriti käsitsi ning leiti andmebaasist piikidele vastavad ühendid ja ühendite protsentuaalsed sisaldused proovis. Sidrun 1 ja 2 kromatogrammid on toodud vastavalt lisas 5 joonisel 6 ja lisas 6 joonisel 7. Kromatogrammi x-teljel on toodud retentsiooniaeg ja y-teljel komponendi kontsentratsioon.

4. Tulemused ja arutelu

4.1. Vesidestillatsioon

Sidrunitega 1 ja 2 viidi läbi vastavalt 3 ja 4 destillatsiooni. Vee-materjali suhe oli 5:1. Taimse materjali ja vee suhte määramisel võeti arvesse seda, et vähese vee koguse korral võib hakata segu intensiivselt vahutama ning sattuda destillatsiooniseadmesse. Sidrun 1 ja sidrun 2 koore eeterliku õli keskmised saagised olid 95% usaldusvärsusega vastavalt $3,84 \pm 0,35\%$ ja $4,68 \pm 0,27\%$. SKEÕ protsentuaalsed saagised on toodud tabelis 3. SKEÕ saagiste täielik tabel on toodud lisas 2 tabelis 5. Saagised on antud 100g värske sidruni koore kohta. Katselisel teel saadud SKEÕ saagis vee-materjali suhtega 5:1 on kordades suurem kui artiklis toodud saagis 0,54 g/100 g (Lu, Huang, Peng, Zhu, & Pan, 2019).

SKEÕ saagiste erinevus artikliga võrreldes võib olla põhjustatud sellest, et võrdluses on erinevat sorti sidrunid, mille koore paksused võivad olla erinevad. Artiklis mainiti, et *albedo* paksus mõjutab eeterliku õli saagist, kuna *albedo* võib oma käsnja struktuuri töttu imada endasse *flavedo*'s olevat eeterlikku õli. Samuti mainiti, et õhem *flavedo* annab suurema EÕ saagise (Teigiserova, Tiruta-Barna, Ahmadi, Hamelin, & Thomsen, 2021).

Sidrun 1 ja 2 koore eeterliku õli saagised (3,84 ja 4,68%) erinevad üsna palju. Erinevused võivad olla tingitud *flavedo* ja *albedo* niiskussisaldusest. Sidrun 1 *flavedo* ja *albedo* niiskussisaldused olid vastavalt 78,97 ja 82,06% ning sidrun 2 puhul vastavalt 79,44 ja 80,15%. Koore niiskussisaldus mõõdeti halogeenkuvitatiga (Mettler Toledo, HR83). Sidrun 2 *flavedo* ja *albedo* olid pea kaks korda õhemad kui sidrun 1 puhul. Sidrun 2 koore suurem EÕ saagis võis olla põhjustatud sellest, et selle *albedo* paksus ja niiskussisaldus oli väiksem kui sidrun 1 puhul, mistõttu võis *albedo*'s olla vähem *flavedo*'st imendunud eeterlikku õli. Samuti oli sidrun 2 *flavedo* niiskusesisaldus suurem ehk temas oli rohkem eeterlikku õli kui sidrun 1 *flavedo*'s. Suurem EÕ saagis saadi õhema *flavedo*'ga sidrunist, mis on kooskõlas artiklis öelduga.

Tabel 3. Sidruni koore eeterliku õli protsentuaalsed saagised

Jrk.nr	Proov	SKEÕ saagis 100g materjali kohta, %
	Sidrun 1	
1		3,55
2		4,31
3		3,43
4		4,05
Keskmine		3,84
Standardhälve		0,36
	Sidrun 2	
1		4,76
2		4,92
3		4,35
Keskmine		4,68
Standardhälve		0,24

4.2. Sidruni koore eeterliku õli koostise analüüs

Primofiori sidrunite koore eeterliku õli koostist analüüsiti gaaskromatograafia-massispektromeetria meetodiga. Mõlema sidruni koore eeterlikku õli analüüsiti 1 kord. Analüüsitud SKEÕ peamised komponendid on toodud tabelis 4. Sidrun 1 ja sidrun 2 koore täieliku EÕ koostise analüüsi tulemused koos retentsiooniaegadega on toodud vastavalt lisas 3 tabelis 6 ja lisas 4 tabelis 7. Sidrunite koore eeterliku õli koostist võrreldakse artiklis uuritud Eureka SKEÕ koostisega, mis on leitav tabelis 1.

Nii Primofiori sidrunites kui ka Eureka sidrunis leiti peaaegu kõik samad EÕ põhikomponendid: limoneen, β -pineen, γ -terpineen, α -pineen, β -mürtseen ja geraniaal. Sabineen oli ainuke põhikomponent, mida Eureka SKEÕ-s polnud. Primofiori SKEÕ-s oli vörreledes Eurekaga rohkem β -mürtseeni, α -tujeeni, α -pineeni, β -pineeni, γ -terpineeni, terpinoleeni, geraniaali, neraali, β -bisaboleeni ja α -bergamoteeni. Vähem leidus Primofiori SKEÕ-s limoneeni, linalooli, terpineen-4-ooli ja nerüülatsetaati. Pea vördsetes kogustes oli karüofülleeni. Suurimaks erinevuseks oli limoneeni sisaldus, mida oli Primofiori SKEÕ-s ligi 15% vähem kui Eureka SKEÕ-s. Kamfeeni Eureka SKEÕ-s ei leidunud, kuid Primofiori SKEÕ-s oli komponenti väga väikeses koguses, 0,07-0,08%. Eureka SKEÕ ei sisaldanud ka tsitronellaali, p-tsümeeni ja nonanaali. Erinevalt Erekast, ei sisaldanud Primofiori SKEÕ α -terpineeni, α -terpineooli, nerooli, geraniooli ja geranüülatsetaati. Erinevused Primofiori ja Eureka sidruni koore eeterliku õli komponentides on töenäoliselt tingitud sellest, et tegu on kahe erinevat sorti sidruniga.

Uuritud Primofiori sidrunite koore eeterlikud õlid koosnesid 20-st komponendist (Lisad 3 ja 4, tabelid 6 ja 7). Monoterpeenidest olid esindatud D-limoneen, α -pineen, β -pineen, α -tujeen, kamfeen, p-tsümeen, terpinoleen, γ -terpineen, sabineen ja β -mürtseen. Seskviterpeenide esindajad olid β -bisaboleen, karüofülleen ja α -bergamoteen. Aldehyüdide esindajad olid geraniaal, tsitronellaal, neraal ja nonanaal. Alkoholide esindajad olid linalool ja terpineen-4-ool. Estrit esindas nerüülatsetaat. D-limoneeni kontsentratsioon sidrunis 1 ja 2 oli väga sarnane. Sabineeni ja nonanaali sisaldus sidrunites oli identne. Suurim erinevus ilmnes γ -terpineeni, β -bisaboleeni, α -bergamoteeni, neraali ja geraniaali sisalduses, mida oli sidrunis 2 rohkem. Ülejäänud ühendite sisaldused olid väga sarnased. Sidrunite 1 ja 2 koore EÕ koostise sarnasust näitavad ka nende pea identsed kromatogrammid, mis on toodud vastavalt lisas 5 joonisel 6 ja lisas 6 joonisel 7.

Tabel 4. Primofiori sidrunite koore eeterliku õli peamised komponendid

Jrk. Nr	Komponent	Komponendi sisaldus, %	
		Sidrun 1	Sidrun 2
1	α -Pineen	2,07	2,25
2	Sabineen	2,19	2,19
3	β -Pineen	10,74	11,02
4	β -Mürtseen	1,65	1,75
5	D-Limoneen	57,05	57,34
6	γ -Terpineen	8,43	9,52
7	Geraniaal	1,26	1,74

4.3. Järeldused

Kahe Primofiori sidruni koore eeterlikku õli eraldati vesidestillatsiooni meetodil. Sidruni 1 ja 2 koore eeterliku õli saagised olid vastavalt $3,84 \pm 0,35\%$ ja $4,68 \pm 0,27\%$. Sidrun 2 *flavedo* niiskussisaldus oli suurem kui sidrun 1 puhul ning sidrun 2 koore eeterliku õli saagis oli suurem. Järelikult mõjutab *flavedo* niiskussisaldus eeterliku õli saagist.

Uuritud sidrunite koore eeterliku õli saagised olid tunduvalt suuremad kui kirjanduses uuritud Eureka sidruni koore eeterliku õli saagis. Järelikult mõjutab sidruni sort eeterliku õli saagist.

Katselisel teel saadud sidrunite koore eeterliku õli koostised oli pea identsed. Peamised komponendid olid D-limoneen, β -pineen, γ -terpineen, sabineen, α -pineen, β -mürtseen ja geraniaal.

Kokkuvõte

Sidrunikoort peetakse jäätmeeks, kuid see sisaldab ühendeid, millel on antioksüdantsed, antimikroobsed, põletiku- ja seenevastased toimed. Nende bioloogiliste omaduste tõttu kasutatakse sidruni koore eeterlikku öli kosmeetika-, parfümeeria-, meditsiini- ja toiduainetööstuses ning aroomiteraapias.

Töö eesmärgiks oli uurida sidruni koore eeterlikku öli. Esmalt eraldati sidruni koore eeterlik öli kasutades vesidestillatsiooni meetodit ning seejärel uuriti eeterliku öli koostist gaaskromatograafiamassispektromeetriab. Uuritavateks objektideks olid Primofiori sidrunid. Sidruni 1 ja 2 koore eeterliku öli saagised olid vastavalt $3,84 \pm 0,35\%$ ja $4,68 \pm 0,27\%$. Kirjandusallikas uuritud Eureka SKEÖ saagis oli 0,54%. Suurema niiskussisaldusega *flavedo*'st eraldus rohkem eeterlikku öli. Uuritud sidrunite koore eeterliku öli koostised olid väga sarnased, peaaegu identsed. Eureka SKEÖ koostis erines mõnevõrra Primofiori omast. Nimelt ei sisaldanud Eureka SKEÖ ühte Primofiori SKEÖ põhikomponenti, sabineeni. Eureka SKEÖ limoneeni sisaldus oli tunduvalt suurem võrreldes Primofioriga. Järelikult mõjutab sidruni sort ja niiskussisaldus eeterliku öli saagist ja koostist.

Töö eesmärgid said täidetud. Sidruni koore eeterlik öli saadi eraldatud vesidestillatsioonil ning eeterliku öli koostis analüüsitud. Töös püstitatud hüpotees kinnitati, sest uuritud sidrunite koore eeterliku öli saagised töepooltest erinesid ning koostised olid pea identsed.

Töö edasiarendamiseks võiks katsetada, kuidas materjali ja vee suhte kohandamine mõjutab eeterliku öli saagist. Nagu eelpool mainitud, võib vee osakaalu vähendamine suurendada eeterliku öli saagist. Samuti võiks uurida lähemalt sidruni koore eeterliku öli kasutamist toidutööstuses arendamaks antimikroobseid pakendeid toidu paremaks säilitamiseks.

Tänuavalused

Soovin tänada oma juhendajat Tiina Lõugast. Ta aitas mind kogu töö välitel ja andis alati head nõu. Samuti innustas ta mind, kui endas kahtlesin ja oli alati valmis mind kuulama ja juhendama. Soovin tänada ka Maria Kuhtinskajat, kes aitas mul analüüsida sidruni koore eeterliku õli koostist.

Kasutatud allikad

- Aćimović, M. G., Tešević, V. V., Smiljanić, K. T., Cvetković, M. T., Stanković, J. M., Kiprovska, B. M., & Sikora, V. S. (December 2020). Hydrolates: By-products of essential oil distillation: Chemical composition, biological activity and potential uses. *Advanced Technologies*, 9(2), 54-70.
- Amenta, M., Ballistreri, G., Fabroni, S., Romeo, F. V., Spina, A., & Rapisarda, P. (August 2015). Qualitative and nutraceutical aspects of lemon fruits grown on the mountainsides of the Mount Etna: A first step for a protected designation of origin or protected geographical indication application of the brand name 'Lime dell'Etna'. *Food Research International*, 74, 250-259.
- Bhavaniramya, S., Vishnupriya, S., Al-Aboody, M. S., Vijayakumar, R., & Baskaran, D. (26. March 2019). Role of essential oils in food safety: Antimicrobial and antioxidant. *Grain & Oil Science and Technology*, 2(2), 49-55.
- Bousbia, N., Vian, M. A., Ferhat, M. A., Meklati, B. Y., & Chemat, F. (2009). A new process for extraction of essential oil from Citrus peels: Microwave hydrodiffusion and gravity. *Journal of Food Engineering*, 90(3), 409-413.
- Boutekedjiret, C., Bentahar, F., Belabbes, R., & Bessiere, J. M. (1. October 2003). Extraction of rosemary essential oil by steam distillation and hydrodistillation. *Flavour and fragrance journal*, 18(6), 481-484.
- Caballero, B., Trugo, L. C., & Finglas, P. M. (2003). Citrus fruits. Lemons. rmt: R. Goodrich, *Encyclopedia of Food Sciences and Nutrition* (lk 1354-1359). Academic.
- Dao, T. P., Tran, N. Q., Tran, T. T., & Lam, V. T. (2021). Assessing the kinetic model on extraction of essential oil and chemical composition from lemon peels (*Citrus aurantifolia*) by hydro-distillation process. *Materials Today: Proceedings*, 1-6.
- Evans, W. C., & Evans, D. (2009). Volatile oils and resins. rmt: W. Evans, *Trease and Evans' Pharmacognosy* (lk 263-303). Nottingham: Elsevier.
- Ferhat, M. A., Meklati, B. Y., & Chemat, F. (10. October 2007). Comparison of different isolation methods of essential oil from Citrus fruits: cold pressing, hydrodistillation and microwave 'dry' distillation. *Flavour and Fragrance Journal*, 22(6), 494-504.
- Festy, D. (2019). *Tähtsamad eeterlikud õlid*. (I. Rääk, Toim., & M.-L. Tiitsmaa, Tölk.) Tallinn: Koolibri.
- Hanif, M. A., Nisar, S., Ghufrana, S. K., Mushtaq, Z., & Zubair, M. (2019). *Essential Oils. Essential Oil Research*. Pakistan: Springer Nature Switzerland AG.
- Hodgson, R. W., & Swingle, W. T. (1967). Horticultural Varieties of Citrus. rmt: R. W. Hodgson, W. Reuther, L. D. Batchelor, & H. J. Webber (Toim-d), *The Citrus Industry vol I: History World Distribution Botany and Varieties* (Kd. 1). Berkeley: University of California. Kasutamise kuupäev: 16. April 2022. a., allikas <http://citruspages.free.fr/C1/Vol1/Chapter4.html#acid>

- Jiang, H., Zhang, W., Xu, Y., Chen, L., Cao, J., & Jiang, W. (21. April 2022). An advance on nutritional profile, phytochemical profile, nutraceutical properties, and potential industrial applications of lemon peels: A comprehensive review. *Trends in Food Science & Technology*, 124, 219-236.
- Klimek-Szczykutowicz, M., Szopa, A., & Ekiert, H. (17. January 2020). Citrus limon (Lemon) Phenomenon—A Review of the Chemistry, Pharmacological Properties, Applications in the Modern Pharmaceutical, Food, and Cosmetics Industries, and Biotechnological Studies. *Plants*, 9(1), 1-24.
- Lončar, M., Jakovljević, M., Šubarić, D., Pavlić, M., Služek, V. B., Cindrić, I., & Molnar, M. (2020). Coumarins in Food and Methods of Their Determination. *Foods*, 9(5), 1-34.
- Lu, Q., Huang, N., Peng, Y., Zhu, C., & Pan, S. (22. July 2019). Peel oils from three Citrus species: volatile constituents, antioxidant activities and related contributions of individual components. *Journal of Food Science and Technology*, 56(10), 4492-4502.
- Mahato, N., Sharma, K., Koteswararao, R., Sinha, M., & Baral, E. &. (9. November 2017). Citrus essential oils: Extraction, authentication and application in food preservation. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 59(4), 1-15.
- Manaila, E., Berechet, M. D., Stelescu, M. D., Craciun, G., Mihaiescu, D. E., Purcareanu, B., . . . Radu, M. (2016). Comparation Between Chemical Compositions of Some Essential Oils Obtained by Hydrodistillation from Citrus Peels. *Revista de Chimie*, 67(1), 106-112.
- Marriott, P. J., Shellie, R., & Cornwell, C. (2001). Gas chromatographic technologies for the analysis of essential oils. *Journal of Chromatography*, 936(1-2), 1-22.
- New Directions Aromatics. (30. March 2017). *About essential oils*. Kasutamise kuupäev: 18. February 2022. a., allikas New Directions Aromatics: <https://www.newdirectionsaromatics.com/blog/products/about-essential-oils.html>
- New Directions Aromatics. (15. May 2019). *How to clean with essential oils: Fresh, green, and natural cleaning*. Kasutamise kuupäev: 28. March 2022. a., allikas New Directions Aromatics: <https://www.newdirectionsaromatics.com/blog/products/best-essential-oils-for-diy-natural-cleaning-products.html>
- Oboh, G., Olasehinde, T. A., & Ademosun, A. O. (March 2014). Essential Oil from Lemon Peels Inhibit Key Enzymes Linked to Neurodegenerative Conditions and Pro-oxidant Induced Lipid Peroxidation. *Journal of Oleo Science*, 63(4), 373-381.
- Rafiq, S., Kaul, R., Sofi, S. A., Bashir, N., Nazir, F., & Nayik, G. A. (2018). Citrus peel as a source of functional ingredient: A review. *Journal of the Saudi Society of Agricultural Sciences*, 17(4), 351-358.
- Sadgrove, N. J., & Jones, G. L. (March 2015). A Contemporary Introduction to Essential Oils: Chemistry, Bioactivity and Prospects for Australian Agriculture. (M. G. Nair, Toim.) *Agriculture*, 5(1), 48-102.

- Samadi, M., Abidin, Z. Z., Yunus, R., Biak, D. R., Yoshida, H., & Lok, E. H. (February 2017). Assessing the kinetic model of hydro-distillation and chemical composition of Aquilaria malaccensis leaves essential oil. *Chinese Journal of Chemical Engineering*, 25(2), 216-222.
- Sarkic, A., & Stappen, I. (12. January 2018). Essential Oils and Their Single Compounds in Cosmetics—A Critical Review. *Cosmetics*, 5(1), 1-21.
- Shankar, S., Prasad, S., Owaiz, M., Yadav, S., Manhas, S., & Yaqoob, M. (2021). Essential oils, components and their applications: A review. *Plant Archives*, 21, 2027-2033.
- Sharmeen, J. B., Mahomoodally, F. M., Zengin, G., & Maggi, F. (27. January 2021). Essential Oils as Natural Sources of Fragrance Compounds for Cosmetics and Cosmeceuticals. *Molecules*, 26(3), 1-24.
- Sharmeen, J. B., Suroowan, S., Rengasamy Kannan, R. R., & Fawzy Mahomoodally, M. (2020). Chemistry, bioactivities, mode of action and industrial applications of essential oils. *Trends in Food Science & Technology*, 101, 89-105.
- Siim, A. (1963). *Orgaaniline keemia*. Tallinn: Eesti Riiklik Kirjastus.
- Singh, B., Singh, J. P., Kaur, A., & Yadav, M. P. (27. February 2021). Insights into the chemical composition and bioactivities of citrus peel. *Food Research International* (143), 1-19.
- Teigiserova, D. A., Tiruta-Barna, L., Ahmadi, A., Hamelin, L., & Thomsen, M. (2021). A step closer to circular bioeconomy for citrus peel waste: A review of yields and technologies for sustainable management of essential oils. *Journal of Environmental Management*, 280, 1-11.
- Thermo Fischer Scientific. (n.d.). *Gas Chromatography-Mass Spectrometry (GC-MS) Information*. Kasutamise kuupäev: 12. April 2022. a., allikas thermofischer.com: <https://www.thermofisher.com/ee/en/home/industrial/mass-spectrometry/mass-spectrometry-learning-center/gas-chromatography-mass-spectrometry-gc-ms-information.html>

Lisad

Lisa 1. Eureka sidruni koore eeterliku õli koostis

Tabel 1. Eureka sidruni koore eeterliku õli koostis. Kohandatud (Ferhat, Meklati, & Chemat, 2007)

Jrk. nr	Retentsiooniaeg	Komponent	Sisaldus, %
1	920	α -tujeen	0,26
2	926	α -pineen	1,34
3	974	β -Pineen	8,58
4	988	β -mürtseen	1,57
5	1020	α -terpineen	0,21
6	1030	limoneen	72,90
7	1103	γ -terpineen	7,77
8	1120	terpinoleen	0,39
9	1125	linalool	0,30
10	1191	terpineen-4-ool	0,29
11	1203	α -terpineool	0,39
12	1237	nerool	0,53
13	1268	neraal	0,95
14	1271	geraniool	0,64
15	1284	geraniaal	1,22
16	1372	nerüülatsetaat	0,48
17	1394	geranüülatsetaat	0,27
18	1418	karüofülleen	0,21
19	1437	trans- α -bergamoteen	0,25
20	1508	β -bisaboleen	0,37

Lisa 2. Primofiori sidrunite koore eeterliku õli saagised

Tabel 5. Primofiori sidrunite koore eeterliku õli saagised

Jrk. nr	Proov	Proovi kaal, g	EÕ saagis, g	EÕ saagis, %	EÕ saagis 100 g materjali kohta, %
	Sidrun 1				
1		50,08	0,89	1,78	3,55
2		50,07	1,08	2,16	4,31
3		50,08	0,86	1,72	3,43
4		50,14	1,02	2,03	4,05
Keskmine			0,96	1,92	3,84
Standardhälve			0,119	0,208	0,36
Sidrun 2					
1		50,18	1,20	2,39	4,76
2		50,04	1,23	2,46	4,92
3		50,10	1,09	2,18	4,35
Keskmine			1,17	2,34	4,68
Standardhälve			0,074	0,146	0,24

Lisa 3. Sidrun 1 koore eeterliku õli koostise analüüs tulemused

Tabel 6. Sidrun 1 koore eeterliku õli koostise tulemused

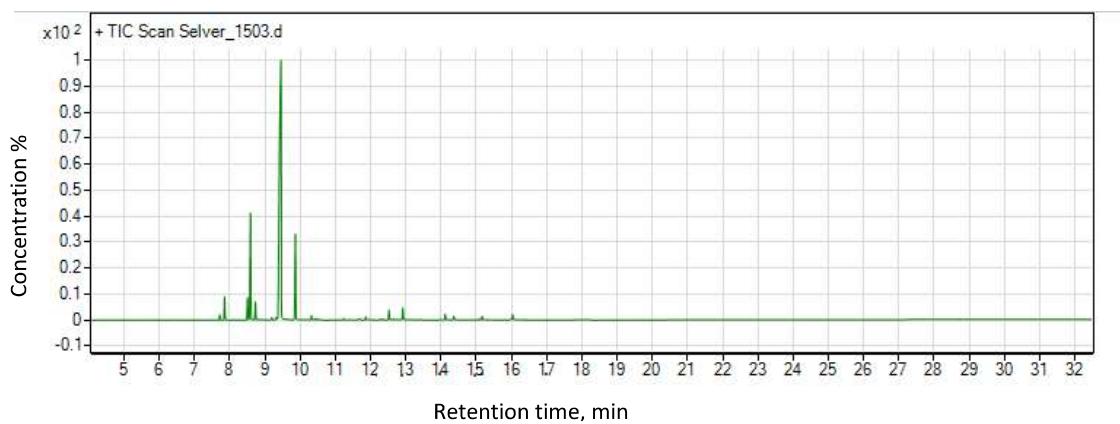
Jrk. nr	Retentsiooniaeg	Sisaldus, %	Komponent
1	7.719	0,46	α -tujeen
2	7.853	2,07	α -pineen
3	8.115	0,07	kamfeen
4	8.506	2,19	sabineen
5	8.590	10,74	β -pineen
6	8.728	1,65	β -mürtseen
7	9.325	0,39	p-tsümeen
8	9.453	57,05	D-limoneen
9	9.865	8,43	γ -terpineen
10	10.323	0,45	terpinoleen
11	10.430	0,16	linalool
12	10.489	0,16	nonanaal
13	11.233	0,16	tsitronellaal
14	11.684	0,20	terpineen-4-ol
15	12.523	0,95	neraal
16	12.916	1,26	geraniaal
17	14.119	0,58	nerüülatsetaat
18	15.078	0,14	karüofülleen
19	15.169	0,38	α -bergamoteen
20	16.035	0,60	β -bisaboleen

Lisa 4. Sidrun 2 koore eeterliku õli koostise analüüs tulemused

Tabel 7. Sidrun 2 koore eeterliku õli koostise analüüs tulemused

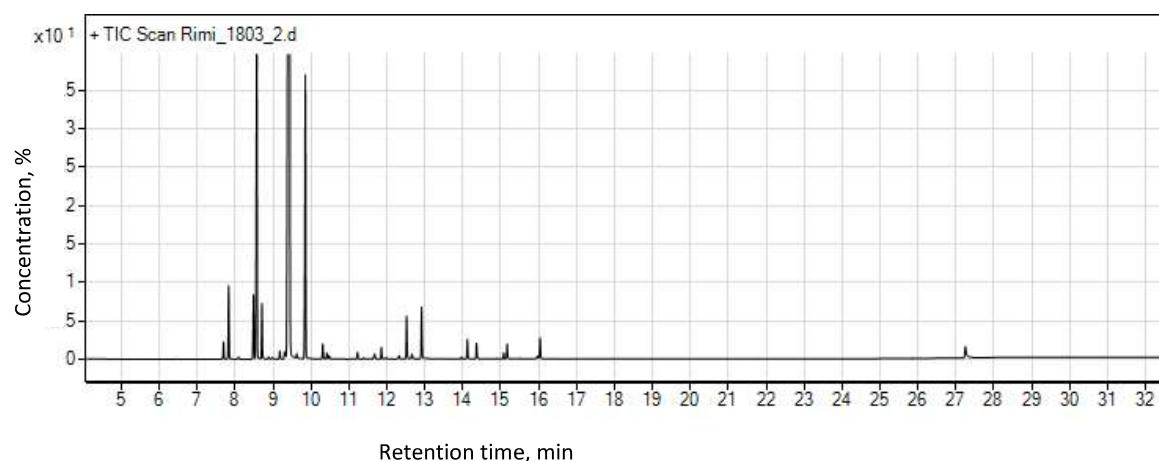
Piigi nr	Retentsiooniaeg	Sisaldus, %	Komponent
1	7.692	0,53	α -tujeen
2	7.827	2,25	α -pineen
3	8.090	0,08	kamfeen
4	8.483	2,19	sabineen
5	8.566	11,02	β -pineen
6	8.706	1,75	β -mürtseen
7	9.307	0,36	p-tsümeen
8	9.431	57,34	D-limoneen
9	9.848	9,52	γ -terpineen
10	10.308	0,50	terpinoleen
11	10.417	0,20	linalool
12	10.476	0,16	nonanaal
13	11.223	0,24	tsitronellaal
14	11.676	0,26	terpineen-4-ol
15	12.520	1,38	neraal
16	12.914	1,74	geraniaal
17	14.120	0,68	nerüülatsetaat
18	15.078	0,21	karüofüleen
19	15.170	0,51	α -bergamoteen
20	16.037	0,78	β -bisaboleen

Lisa 5. Sidrun 1 koore eeterliku õli koostise kromatogramm



Joonis 6. Sidrun 1 koore eeterliku õli koostise kromatogramm

Lisa 6. Sidrun 2 koore eeterliku õli koostise kromatogramm



Joonis 7. Sidrun 2 koore eeterliku õli koostise kromatogramm

Lihtlitsentsi lõputöö reproduutseerimiseks ja lõputöö üldsusele kättesaadavaks tegemiseks

Mina, Kristiina Leibur

1. Annan Tallinna Tehnikaülikoolile tasuta loa (lihtlitsentsi) enda loodud teose, Sidruni koore eeterliku öli analüüs, mille juhendaja on Tiina Lõugas,
 - 1.1. reproduutseerimiseks lõputöö säilitamise ja elektroonse avaldamise eesmärgil, sh Tallinna Tehnikaülikooli raamatukogu digikogusse lisamise eesmärgil kuni autoriõiguse kehtivuse tähtaaja lõppemiseni;
 - 1.2 üldsusele kättesaadavaks tegemiseks Tallinna Tehnikaülikooli veebikeskkonna kaudu, sealhulgas Tallinna Tehnikaülikooli raamatukogu digikogu kaudu kuni autoriõiguse kehtivuse tähtaaja lõppemiseni.
2. Olen teadlik, et käesoleva lihtlitsentsi punktis 1 nimetatud õigused jäävad alles ka autorile.
3. Kinnitan, et lihtlitsentsi andmisega ei rikuta teiste isikute intellektuaalomandi ega isikuandmete kaitse seadusest ning muudest õigusaktidest tulenevaid õigusi.

13.05.2022