

# OCENA WŁAŚCIWOŚCI REPELENCYJNYCH OLEJKÓW ETERYCZNYCH Z MIĘTY PIEPRZOWEJ, LAWENDY WĄSKOLISTNEJ ORAZ PELARGONII PACHNĄCEJ WZGLĘDEM SAMIC KOMARA BRZĘCZĄCEGO

Magdalena Rogut (Łódź)

## Streszczenie

Celem badań było określenie właściwości repelencyjnych olejków eterycznych z mięty pieprzowej (*Mentha piperita*), lawendy wąskolistnej (*Lavandula angustifolia*) oraz pelargonii pachnącej (*Pelargonium graveolens*) wobec samic komara brzęczącego (*Culex pipiens*). Oceny właściwości repelencyjnych dokonano na podstawie aktywności samic *C. pipiens* poprzez oznaczenie czasu ich lotu podczas wystawienia na działanie olejku, a także ocenę rozmieszczenia komarów w stosunku do olejku. W celu określenia aktywności owadów posłużono się nagraniami audio. W próbach badawczych zastosowano 1 ml olejku w stężeniu 100%. Najskuteczniejszym repelentem okazał się olejek z mięty pieprzowej, na co wskazuje stosunkowo długi (ok. 1,5 h) czas działania oraz największa aktywność komarów. Najslabsze działanie wykazywał olejek lawendowy.

## Wstęp

Komary to niezwykle uciążliwe insekty. Ze względu jednak na ich niewielkie rozmiary, ludzie często nie dostrzegają potencjalnego zagrożenia, związane go z możliwością pełnienia przez komara roli wektora dla wielu niebezpiecznych patogenów.

Spośród licznych chorób, do których rozprzestrzeniania przyczyniają się komary, na uwagę zasługuje malaria. Tylko w 2010 roku odnotowano ok. 219 mln przypadków malarii, w tym 660 tys. śmiertelnych [13]. Mimo stosunkowo wielu dostępnych na rynku produktów odstraszających komary, wciąż prowadzone są badania, które mają na celu pozyskanie skuteczniejszych repelentów. Świadczy to o dużym zapotrzebowaniu na tego typu środki oraz o konieczności zapewnienia bezpieczeństwa ludziom szczególnie narażonym na kontakt z komarami roznoszącymi śmiertelne choroby.

Najpopularniejszym dziś repelentem stosowanym na całym świecie jest DEET (*N,N*-Dietylo-*m*-toluamid), budzi on jednak pewne kontrowersje w związku z możliwością efektów toksycznych przy połączeniu z insektycydami (3) oraz udokumentowanymi przypadkami powodowania zaburzeń układu nerwowego człowieka przy stosowaniu bardzo dużych dawek [11]. Co więcej, istnieją doniesienia o uodparnianiu się komarów na powtórny kontakt z DEET [12]. Dlatego też postanowiłam podjąć próbę znalezienia alternatywnych repelentów i zbadać odstraszający wpływ na komary olejków eterycznych pozyskiwanych z roślin, które uprawiane są również w Polsce – mięty pieprzowej, lawendy wąskolistnej oraz pelargonii pachnącej.

## Materialy i metody

Do badań wybrałam olejki eteryczne firmy Dr Beta, pozyskane metodą destylacji z parą wodną.

Olejek z kwiatów lawendy wąskolistnej (*Lavandula angustifolia*) pochodził z Francji [5]. Stosowany jest w przypadku różnych uszkodzeń skóry, bólach głowy i mięśni. Głównym składnikiem jest octan linalolu i linalilu, którego zawartość dochodzi nawet do 75% [14].

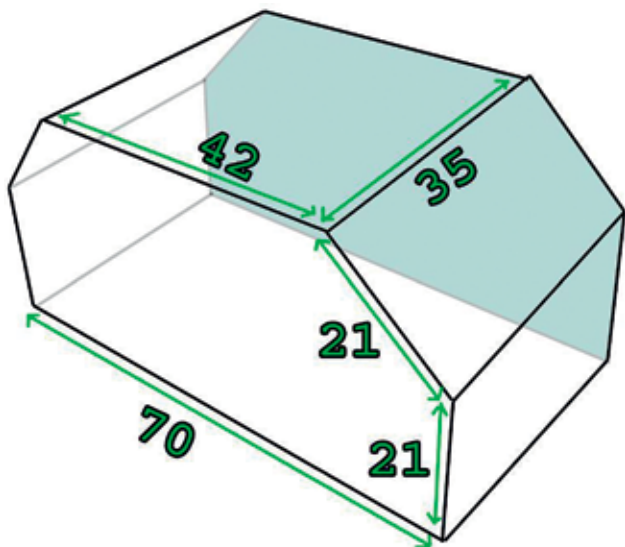
Olejek z ziela pelargonii pachnącej (*Pelargonium graveolens*) pochodził z Egiptu [4]. Przeciwdziała rozwojowi drobnoustrojów, depresjom oraz stymuluje układ odpornościowy. Głównym składnikiem jest geraniol [8].

Olejek z ziela mięty pieprzowej (*Mentha piperita*) pochodził z Australii [6]. Jego głównym składnikiem jest mentol, którego zawartość może przekraczać 40%. Wykazuje działanie wirusobójcze, bakteriostatyczne oraz znieczulające [14].

Badania prowadziłam na 2 grupach samic komarów zidentyfikowanych przy pomocy lupy o pięciokrotnym powiększeniu jako gatunek *Culex pipiens*. Jest to gatunek pospolicie występujący w Polsce.

Samce i samice można rozróżnić po czułkach, pokrytych u samców długimi włoskami. Komar ten może przenosić wirusy neurotropowe z ptactwa domowego na człowieka [7].

Owady hodowałam w akwarium o obj. 78,89 l (Ryc. 1), którego przestrzeń została zamknięta wycinkiem siatki przeciwko owadom w kształcie sześciokąta, który został umocowany przezroczystą taśmą klejącą. W tak powstałej ścianie wycięłam otwór o średnicy 15 cm, który zapewnił mi dostęp do wnętrza



Ryc. 1. Model akwarium w położeniu właściwym dla badań (szary obszar to ściana tylna wykonana z siatki).

akwarium. Dopasowałam do niego wieczko, również wykonane z ww. siatki, i przytwierdziłam przy pomocy szpilek. Larwy pozyskałam dwukrotnie (16.08.13 r. oraz 23.08.13 r.) z beczki z wodą deszczową z przydomowego ogródka. Znajdowały się wśród nich osobniki w różnych stadiach rozwojowych (Ryc. 2). Poławiałam je za pomocą sitka kuchennego. Larwy rozlewałam do trzech mniejszych słoików o pojemności 840 ml, po czym wstawiałam je do akwarium, zwróconego ścianą z siatki (zw. dalej tylną) do góry. Podczas liczenia dorosłych owadów pojawiających się w akwarium wykorzystywałam linie, nakreślone na szybach naczynia permanentnym markerem.

Następnie wyjęłam słoiki, samce oraz część samic odłowiałam przy pomocy przezroczystego pojemnika i wypuściłam na wolność. Uzyskałam dzięki temu grupę o pożądanej liczebności (30 samic). Akwarium obróciłam do właściwej dla badania pozycji (Ryc. 1, Ryc. 4). Zostało ono otoczone z 4 stron ekranami w kolorze białym, aby zminimalizować wpływ otoczenia na wyniki. Ciemne łączenia ścian akwarium zostały od wewnątrz zaklejone białą taśmą izolacyjną. Olejkami eterycznymi (1 ml, w stężeniu 100%) nasączałam bawełniany wacik kosmetyczny,

przymocowany do plastikowej listwy w kolorze białym oddalonej o 10 cm od tylnej ściany akwarium. Przeprowadziłam po 3 próby badawcze na każdej grupie komarów dla każdego olejku, a uzyskane wyniki uśredniłam. Próby kontrolne w liczbie 2, w których zastosowałam suchy bawełniany wacik, także przeprowadziłam na każdej grupie owadów (razem 4 próby). Łączny czas badań dla każdej grupy wynosił ok. 24 h. Akwarium całą dobę pozostawało oświetlane światłem białym przy pomocy lamp jarzeniowych o mocy 80 W znajdujących się ok. 2 m nad akwarium, a temperatura była regularnie kontrolowana i utrzymywała się na stałym poziomie 20–25°C.

Kolejność badań każdej grupy była następująca: 2x próba kontrolna, 3x olejek geraniowy, 3x lawendowy, 3x miętowy. Między kolejnymi próbami miały miejsce 30-minutowe przerwy, podczas których akwarium było wentylowane, aby uniknąć wpływu zapachu olejku z poprzedniej próby na próbę kolejną. Następnie do tylnej ściany przystawiałam plastikowy, przezroczysty pojemnik o wym. 10x10x6 (cm), którego 1 ze ścian wykonana była z siatki, a wewnątrz znajdowała się 1 samica *C. pipiens*. Brak reakcji podczas kontaktu ze ścianą akwarium uznałam za równoznaczne z brakiem zapachu olejku. Pomiar aktywności komarów (zapis dźwiękowy lotu) przeprowadziłam za pomocą odtwarzacza MP3 z funkcją



Ryc. 2. Larwy *C. Pipiens*. Widoczne zróżnicowane stadia rozwojowe.

dyktafonu. Uzyskaną ścieżkę audio analizowałam za pomocą programu Acoustica Basic Edition 5.0. Każdy ciągły obszar wysokiej amplitudy podczas analizy czasowej nagrania przyjęłam za 1 lot komara. Przed przednią szybą akwarium umieściłam aparat cyfrowy z funkcją nagrywania HD. Dzięki uzyskanemu nagraniu mogłam obserwować tylną ścianę akwarium, bezpośrednio sąsiadującą z wacikiem nasączonym olejkiem, co pozwoliło mi określić ilość komarów, które pojawiały się na tej ścianie podczas badań oraz ocenić, czy aktywność owadów związana była

z odstrasżającym działaniem olejku (równoznaczne z brakiem komarów w pobliżu wacika), czy wynikała z innych czynników (równoznaczne z obecnością komarów w pobliżu olejku w czasie ich największej aktywności).



Ryc. 3. Samiec i samica *C. pipiens*.

## Wyniki

Próby kontrolne wykazały, że oświetlenie oraz wacik kosmetyczny nie mają wpływu na aktywność komarów. We wszystkich próbach kontrolnych zaobserwowano 2 do 5 krótkich (2–4 s) lotów rozdzielonych stosunkowo długimi przerwami czasowymi (Ryc. 5).

Najsilniejszymi właściwościami repelencyjnymi odznaczał się olejek z mięty pieprzowej, w przypadku którego zaobserwowano nie tylko najdłuższy (ok. 1,5 h) czas działania (Ryc. 6), ale ponadto najwięcej najdłużej trwających (16 s) lotów komarów (Ryc. 5).

Olejek eteryczny z lawendy wąskolistnej okazał się być najsłabszym repelentem. Wskazuje na to nie tylko relatywnie krótki czas działania (ok. 0,5 h), ale również rzadko pojawiające się loty zakwalifikowane do grupy najdłużej trwających (13–16 s).

Olejek z geranium okazał się słabszym repelentem w porównaniu z mięta pieprzową, jednak i w tym przypadku odnotowano loty trwające 16 s.

Początkowy okres kontaktu komarów z olejkiem geraniowym sugeruje nieznacznie silniejsze oddziaływanie na owady (Ryc. 7), co wynika z nieco większej ilości lotów. Czas takiego działania był jednak

znacznie krótszy. Tabela 1 przedstawia stosunek najdłuższego do najkrótszego czasu lotu w wyznaczonych przedziałach. Jak widać, w przypadku olejku miętowego wystąpiła największa różnica między ilością lotów zakwalifikowanych do przedziału 13 s–16 s jako loty najdłuższe. Wskazuje to, że lot komarów osiągał tutaj ponad dwa razy częściej długość maksymalną (16 s) niż minimalną (13 s) dla tego przedziału, co nie zostało zobrazowane na prezentowanych wyżej wykresach. W przypadku olejku lawendowego wartości zbliżone do 0 w przedziałach dla długości lotu 5–8 s i 9–12 s wskazują, że loty najkrótsze w określonym przedziale występowały częściej niż loty najdłuższe. Dla pierwszego przedziału (1–4 s) obliczyłam stosunek zarówno 4 s/1 s, jak i 4 s/2 s, aby określić, czy loty trwające zaledwie 1 s były związane z bezpośrednim działaniem olejków. Uzyskane wyniki znacznie się różnią, zwłaszcza w przypadku olejku lawendowego, co może sugerować, że przynajmniej część lotów nie była wynikiem bezpośredniego działania repelentów. Nie wyklucza to jednak możliwości pośredniego wpływu olejku na aktywność owadów.



Ryc. 4. Stanowisko badawcze po odsunięciu przedniego ekranu.

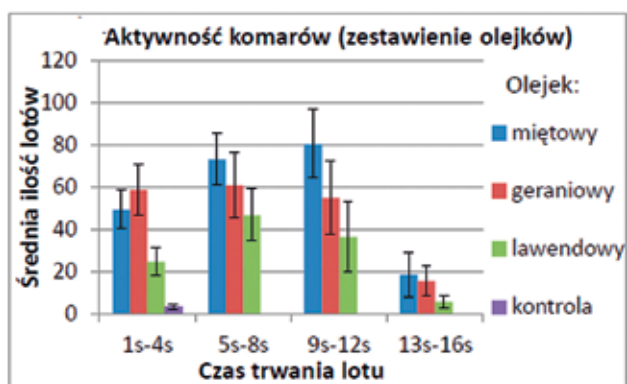
Nagranie z kamery pozwoliło wykluczyć, że wzmożona aktywność komarów mogła mieć związek z innym niż odstrasżający wpływem olejków na komary. W przypadku każdego z olejków ściana w pobliżu wacika początkowo była pusta, a pierwsze owady pojawiały się w różnych przedziałach czasowych, ale przez całe 3 h zachowywały znaczną odległość od olejku. W próbach kontrolnych komary w stosunkowo dużej ilości (6–7 osobników, co stanowiło 20–23,3% całkowitej ich liczby) zajmowały tylną ścianę akwariarium już na początku doświadczenia (średnio w czasie pierwszych 10 minut). Ilość komarów na tylnej ścianie akwariarium w żadnej z prób badawczych nie przekroczyła 17,8% całkowitej liczby owadów. Co więcej, tak wysoki odsetek zaobserwowano jedynie w przypadku olejku lawendowego, podczas gdy maksymalna ilość osobników siedzących na ww.



ścianie w czasie badania olejków geraniowego i miętoowego wynosiła odpowiednio: 12,8% oraz 9,4%.

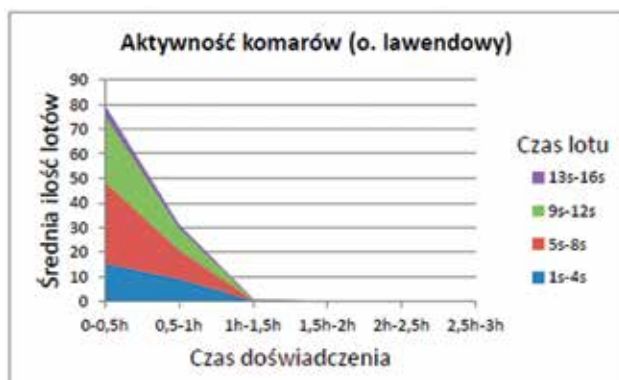
## Dyskusja

Najbardziej skutecznym repelentem spośród testowanych olejków wydaje się być olejek z mięty pieprzowej. Również badania innych autorów (M.A. Ansari i in., 2000) wskazują na wyraźne działanie odstrasżające mięty pieprzowej, m.in. w stosunku do *Culex quinquefasciatus*, który jest gatunkiem blisko spokrewnionym z *C. pipiens*. Badania wykazały, że czynnikiem bezpośrednio odpowiedzialnym za repelencyjne właściwości *Mentha piperita* jest mentol [10].



Ryc. 5.

Znacznie trudniej znaleźć wyniki badań na temat oddziaływania olejku z geranium na *C. pipiens*. Większość badań obejmuje jedynie kosmetyki z dodatkiem ww. olejku lub jego mieszanki z innymi olejkami eterycznymi, co może maskować jego działanie i w związku z tym czynić je niemożliwym do oceny. Podobnie sytuacja przedstawia się w przypadku olejku lawendowego. Günter C. Müller i in. (2009)

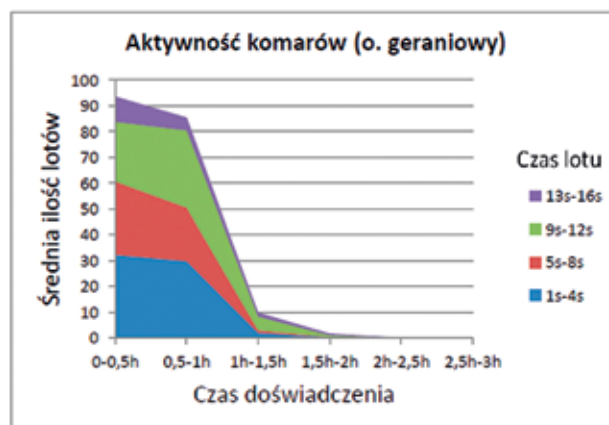


Ryc. 6.

określili jednak skuteczność głównych składników obu olejków (geraniolu oraz linalolu) jako repelentów, a uzyskane przez nich wyniki pokrywają się z rezultatami uzyskanymi w moich badaniach. Geraniol

okazał się skutecznym środkiem repelencyjnym, odstrasżając 75% samic komarów, natomiast działanie linalolu było słabsze, skutkując 58% skutecznością [9].

Nie spotkałam się jednak z badaniami, w których zostałyby wykorzystana zastosowana przeze mnie metoda pomiarów (rejestrwanie dźwięku lotu komarów), co utrudnia bezpośrednią konfrontację moich wyników z wynikami innych badaczy. Co więcej, w innych pracach oddziaływanie repelentów na owady mierzone było zazwyczaj poprzez określenie ilości komarów, które wylądowały nie na ścianie zamkniętego naczynia, ale na ciele ochotników po aplikacji środka odstrasżającego owady.



Ryc. 7.

Dzięki niezmiennemu oświetleniu oraz otoczeniu akwarium białymi ekranami wykluczyć można statystycznie istotny wpływ otoczenia na moje wyniki. Ponadto wyniki, jakie uzyskałam dla każdej z 2 grup komarów, nie odbiegają od siebie w znaczący sposób, co może wskazywać, że również czas wylęgu i przeobrażenia owadów nie miał większego znaczenia. Warto jednak zauważyć, że część obserwowanych lotów mogła wynikać z gwałtownego lądowania komarów na ścianach akwarium i związanego z tym kontaktu z pozostałymi osobnikami, co stymulowałoby siedzące osobniki do lotu. Mogłoby to tłumaczyć zróżnicowany udział lotów trwających 1 s w całkowitej ilości lotów dla poszczególnych olejków. Owady lokowały się bowiem w najkorzystniejszym pod względem odległości od olejku miejscu (gwarantującym możliwie najsłabsze oddziaływanie zapachu, czyli najbardziej od olejku oddalone), tak więc prawdopodobnie ich loty wywołane pobudzeniem ze strony pozostałych osobników nie były bodźcem na tyle silnym, aby wyzwolić lot dłuższy (gdyż jakkolwiek inna lokacja wiązałaby się ze zmniejszeniem odległości od wacika). Dlatego też uznałam te loty za istotne i odzwierciedlające siłę działania olejku – mogą

one bowiem świadczyć o konieczności skupiania się owadów w jednym miejscu, odpowiednio oddalonym od repelenta i pozostawianiu tam nawet po podrażnieniu przez towarzyski. Stosunkowo duży udział lotów 1 s w przedziale 1–4 s w przypadku olejków geraniowego i lawendowego (Tab. 1) mógł zatem być wynikiem takich właśnie oddziaływań. Rzeczywiście, 1-sekundowe loty występowały głównie na początku badania, a więc wtedy, gdy w akwarium mogły znajdować się miejsca, gdzie woń olejku jeszcze nie dotarła. Działanie olejków lawendowego i geraniowego było najsilniejsze w początkowym okresie doświadczenia, jednak w obu przypadkach okazało się bardzo krótkie (Ryc. 6, 7). W świetle takich danych właściwe wydawać się może nawet stwierdzenie, iż w rze-

Tab. 1. Stosunek długości lotów najdłuższych i najkrótszych w przyjętych podczas badań przedziałach czasowych.

	4s/1s	4s/2s	8s/5s	12s/9s	16s/13s
olejek miętowy	5,25	1,909091	2,823529	0,297619	2,411765
olejek geraniowy	2,673469	1,408602	1,029412	0,314607	0,90625
olejek lawendowy	2,777778	0,446429	0,594595	0,421053	0

czywistości najsilniejsze właściwości repelencyjne ma olejek geraniowy, jednakże krótki czas działania znacznie obniża jego skuteczność.

Już w latach 90. XX wieku pojawiły się badania świadczące o wykorzystywaniu przez samice *C. pipiens*

receptorów wykrywających terpenoidy [2]. Być może to właśnie one stanowią drogę działania olejków, wzięwszy pod uwagę fakt, iż ww. geraniol, mentol oraz linalol należą do związków z grupy terpenoidów. Mimo licznych badań poświęconych wpływowi olejków eterycznych na komary, na rynku wciąż niewiele jest środków, które zawierają ich znaczące ilości. Większość z nich zawiera jedynie kilka procent olejku, co sprawia, że jego działanie staje się znacznie mniej efektywne.

Badania olejków eterycznych prowadzone są zwykle na komarach z rodzaju *Anopheles*, które są wektorami dla pierwotniaków z rodzaju *Plasmodium*, wywołujących malarię. Chociaż własne badania prowadziłam na gat. z rodzaju *Culex*, dostrzegam potencjalną szansę wykorzystania olejku miętowego lub mentolu jako repelenta na terenach malarycznych. W związku z dość dobrymi wynikami uzyskanymi podczas testowania olejku geraniowego myślę ponadto, że nie należy odrzucać możliwości zastosowania i tego olejku jako repelenta. Być może lepsze rezultaty przyniosłoby wyekstrahowanie samego geraniolu lub połączenie olejków z geranium i mięty pieprzowej.

## Piśmiennictwo:

1. Ansari M.A., Vasudevan P., Tandon M., Razdan R.K. (2000). Larvicidal and mosquito repellent action of peppermint (*Mentha piperita*) oil. *Bioresource Technology* 71(3), 267-271
2. Bowen M.F. (1992). Terpene-sensitive receptors in female *Culex pipiens* mosquitoes: Electrophysiology and behaviour. *Journal of Insect Physiology* 38(10), 759-764
3. Corbel V., Stankiewicz M., Pennetier C., Fournier D., Stojan J., Girard E., Dimitrov M., Molgó J., Hougard J., Lapied B. (2009). Evidence for inhibition of cholinesterases in insect and mammalian nervous systems by the insect repellent deet. *BMC Biology* 2009, 7:47
4. <http://www.drbeta.pl/olejek-geraniowy.html> [dostęp: 30-08-2013]
5. <http://www.drbeta.pl/olejek-lawendowy.html> [dostęp: 30-08-2013]
6. <http://www.drbeta.pl/olejek-miety-pieprzowej.html> [dostęp: 30-08-2013]
7. Kadłubowski R. (1999). *Zarys parazytologii lekarskiej*. Wyd. PZWL, Warszawa
8. Kołodziejczyk A. (2004). *Naturalne związki organiczne*. Wyd. PWN, Warszawa
9. Müller G.C., Junnila A., Butler J., Kravchenko V.D., Revay E.E., Weiss R.W., Schlein Y. (2009). Efficacy of the botanical repellents geraniol, linalool, and citronella against mosquitoes. *Journal of Vector Ecology* 34(1); 2-8
10. Samarasekera R., Weerasinghe I.S., Hemalal P. (2007). Insecticidal activity of menthol derivatives against mosquitoes. *Pest Management Science* 64(3), 290-295
11. Snyder J. W., Poe R. O., Stubbins J. F., Garrettson L. K. (1986). Acute Manic Psychosis Following the Dermal Application of N,N-Diethyl-M-Toluamide (deet) in an Adult. *Clinical Toxicology* 24(5); 429-439
12. Stanczyk NM, Brookfield JFY, Field LM, Logan JG (2013) *Aedes aegypti* Mosquitoes Exhibit Decreased Repellency by DEET following Previous Exposure. *PLoS ONE* 8(2): e54438. doi:10.1371/journal.pone.0054438
13. World Health Organization (2012). *World Malaria Report*. WHO Library Cataloguing-in-Publication Data, Geneva
14. Wyk B., Wink M. (2008). *Rośliny lecznicze świata*. Wyd. MedPharm, Wrocław