

На правах рукописи

**Артюшина Ирина Юрьевна**

**ЗНАЧЕНИЕ КОМПОНЕНТОВ ПИТАТЕЛЬНОГО РАСТВОРА  
В ФОРМИРОВАНИИ КОМПОЗИЦИИ АРОМАТА  
СРЕЗАННЫХ РОЗ**

Специальность: 06.01.04 – агрохимия

**АВТОРЕФЕРАТ**

диссертации на соискание ученой степени  
кандидата биологических наук

Москва – 2014

Работа выполнена на кафедре агрохимии и биохимии растений факультета почвоведения Московского государственного университета имени М.В. Ломоносова.

**Научный руководитель** доктор биологических наук, профессор, Верховцева Надежда Владимировна.

**Официальные оппоненты:**

Верниченко Игорь Васильевич, доктор биологических наук, профессор, Российский государственный аграрный университет – МСХА имени К.А. Тимирязева, профессор кафедры агрономической, биологической химии и радиологии

Коновалов Сергей Николаевич, кандидат биологических наук, Государственное Научное Учреждение Всероссийский селекционно-технологический институт садоводства и питомниководства Россельхозакадемии, заведующий лабораторно-аналитическим центром агрохимии, почвоведения и агроэкологии

**Ведущая организация** Государственное научное учреждение Всероссийский научно-исследовательский институт агрохимии имени Д.Н. Прянишникова

Защита состоится «    »                    2015 г. в ч. мин.  
на заседании диссертационного совета Д 501.002.13 при Московском государственном университете имени М.В.Ломоносова по адресу: 119991, Москва, ГСП-1, Ленинские горы, Д. 1, строен. 12, МГУ имени М.В. Ломоносова, факультет почвоведения.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке МГУ имени М.В. Ломоносова и на сайте [www.soil.msu.ru/zashchita-dissertatsii](http://www.soil.msu.ru/zashchita-dissertatsii)

Автореферат разослан «    »                    2014 г.

Ученый секретарь  
диссертационного совета

Зенова Галина Михайловна

## ВВЕДЕНИЕ

Актуальность темы. Современные сорта роз на срезку часто не имеют своего специфического запаха. Тем не менее, запах розы, наряду с цветом и формой цветка, длиной стебля и т.д., является значимой характеристикой ее качества и пользуется спросом у потребителя, что подчеркивает важность управления синтезом и эмиссией душистых веществ в декоративных культурах с экономической точки зрения (Zucker, 1998; Kaiser, 2004; De Preville, 2006; Lewinsohn, 2009; Negre-Zakharov, 2009). Летучие органические соединения, обуславливающие аромат растений, в том числе, обладают биологической активностью, (Виноградов, 2006; Ткачев, 2008), целенаправленно используемой для оздоровления окружающей среды в рамках гармонизации человека с современной городской средой обитания. Следовательно, управление биосинтезом и эмиссией фитоорганических выделений растений, в частности роз, может иметь практическое значение и для средоулучшающих фитотехнологий (Жученко, 2009).

Состояние проблемы. Несмотря на усиливающийся в последние десятилетия интерес к вопросам производства компонентов аромата и механизмов, регулирующих их эмиссию, исследования биохимии этих процессов до сих пор немногочисленны. Вопросы, касающиеся модификации цветочного аромата, исследовались, главным образом, с позиций генной инженерии. Однако генный подход, несмотря на очевидную значимость, имеет ряд нюансов, которые могут ограничить его использование. Например, длительный промежуток времени с момента начала эксперимента до регистрации результата, отсутствие прямой зависимости «изменение гена – эмиссия компонента аромата», обусловленное сложной организацией биологических процессов в самом растении, и, вместе с тем, дорогостоящие технологии, применение которых, неизбежно сказывается на стоимости конечного продукта – новых сортов роз. Кроме того, обсуждаемый метод сам по себе не всегда является достаточным для изменения цветочного аромата.

Согласно ряду авторов (US Patent 7087552; Ben Zvi, 2008; Schie, 2006; Tanaka, 2005; Хелдт, 2011), нехватка доступного субстрата для биосинтеза пахучих веществ является одним из лимитирующих факторов этого процесса. Исходя из этого, появилась, на наш взгляд, интересная и открывающая широкое поле для исследований идея метаболического влияния на композицию цветочного аромата. В целом, вещества, определяющие аромат роз представляют собой вторичные метаболиты растений, которые принадлежат разным химическим классам веществ. Несмотря на их большое разнообразие, синтезируются эти соединения в растении через относительно небольшое число метаболических путей из определенных веществ – предшественников (как правило, продуктов первичного метаболизма). Таким образом, конечный продукт той или иной реакции синтеза может зависеть от доступности необходимых промежуточных соединений. Следовательно, применяя к питанию растения различные химические соединения, участвующие в

процессе синтеза компонентов композиции аромата (или группы компонентов), можно влиять на состав смеси органических летучих соединений, выделяемых растением (Артюшина, 2013, № 2).

Цель и задачи исследования. Целью диссертационной работы являлось исследование состава летучих органических соединений (аромата) срезанных роз в зависимости от состава питательного раствора (внесение предшественников пахучих веществ).

Для достижения поставленной цели решали следующие задачи:

1. Подобрать и отработать методику улавливания летучих органических соединений роз для последующего хромато - масс-спектрометрического анализа с учетом специфики объекта исследования.
2. Проанализировать изменение состава смеси летучих органических веществ розы под влиянием:
  - внесения разных предшественников пахучих веществ в питательный раствор;
  - времени нахождения растений в питательном растворе; концентрации предшественника в питательном растворе.
3. Оценить общее восприятие аромата роз в зависимости от внесения предшественников в питательный раствор.

Научная новизна работы. Впервые исследовано влияние внесения предшественников пахучих веществ (ацетилсалициловой, бензойной, коричной кислот, фенилаланина и ацетата натрия) на изменение состава смеси летучих органических соединений, выделяемой цветками роз. Показана возможность влияния на состав выделяемой розами смеси летучих органических веществ (композиции аромата) внесением в питательный раствор к срезанным цветам химических соединений – участников биосинтеза вторичных метаболитов. Хромато-масс-спектрометрическим анализом показано, что содержание основного характеристического компонента аромата роз, отвечающего за «чайный» запах – 3,5-диметокситолуола (3,5-ДМТ), увеличивается при внесении смеси фенилаланина и ацетата натрия (в 4 раза), отдельно фенилаланина и коричной кислоты (в 3 раза) по сравнению с контрольным вариантом. Установлено, что внесение в питательный раствор к срезанным розам фенилаланина, бензойной и коричной кислот способствует увеличению суммарной доли ароматических соединений; внесение ацетата натрия и ацетилсалициловой кислоты - сесквитерпеновых углеводородов в летучих выделениях роз. Органолептическим анализом был отмечен характерный розоподобный аромат с «чайным» оттенком у роз вариантов опыта с наибольшим содержанием 3,5-диметокситолуола – при внесении смеси фенилаланина с ацетатом натрия, фенилаланина отдельно и бензойной кислоты. Показано, что высокую оценку по восприятию аромата получили розы вариантов с преобладанием группы терпенов и терпеноидов и близким суммарным содержанием производных жирных кислот и ароматических соединений.

Теоретическая и практическая значимость работы. Показана возможность регулирования аромата срезанных роз (как смеси летучих органических соединений) варьированием состава питательного раствора. Целенаправленное изменение смеси летучих органических соединений, выделяемой растениями, совместно со строгим контролем содержания этих веществ методом газовой хроматографии-масс-спектрометрии с точки зрения гигиенических аспектов могут быть полезными при разработке и использовании средоулучшающих фитотехнологий (Малышева, 2013; Артюшина, 2014). Полученные и апробированные результаты настоящей работы могут использоваться при разработке качественного и количественного состава композиции, которая будет изменять аромат роз в срезке. Практический выход данной работы может представлять собой готовый для продажи продукт, который будет предлагаться вместе с букетом роз. При этом стоимость самих цветов не изменяется, а также учитываются предпочтения той части потребителей, которая целенаправленно выбирает цветы без запаха (например, аллергики). В итоге, можно получить товар высокого качества при минимальных затратах, который удовлетворяет потребности разных групп потребителей. Это соответствует основным задачам агрохимии как науки.

Положения, выносимые на защиту:

1. Содержание основных характеристических компонентов аромата роз – 3,5-диметокситолуола и 1,3,5-триметоксибензола - изменяется при внесении в питательный раствор предшественников биосинтеза компонентов цветочного аромата.

2. Бензойная, коричная и ацетилсалициловая кислоты, фенилаланин и ацетат натрия, внесенные в питательный раствор к срезанным розам, влияют на состав композиции аромата срезанных роз сорта Flash Nigh:

а) внесение фенилаланина, бензойной и коричной кислот способствует биосинтезу ароматических соединений роз в соответствии с теоретическими основами биосинтеза по шикиматному пути;

б) внесение ацетата натрия и ацетилсалициловой кислоты увеличивает содержание сесквитерпеновых углеводов в композиции летучих органических веществ роз в соответствии с ацетатно-мевалонатным путем биосинтеза.

Апробация работы. Основные положения работы представлены на международной конференции «Биология – наука XXI века» (Москва, 2012), IX международной научно-практической конференции «Современные достижения науки – 2013» (Чехия, Прага, 2013), XIX международной научной конференции студентов, аспирантов и молодых ученых «Ломоносов – 2013» (Москва, 2013), Пленуме Научного совета по экологии человека и гигиене окружающей среды РФ «Приоритеты профилактического здравоохранения в устойчивом развитии общества: состояние и пути решения проблем» (Москва, 2013).

*Структура и объем диссертации.* Диссертация состоит из введения, обзора литературы, описания объектов и методов исследования, результатов и их обсуждения, выводов, списка литературы и приложения. Работа изложена на 126 страницах, иллюстрирована 22 рисунками, включает 11 таблиц. Список использованных литературных источников состоит из 182 наименований, в том числе 142 на иностранных языках.

Автор выражает искреннюю признательность своему научному руководителю д.б.н., профессору Н.В. Верховцевой за внимательное и вежливое отношение, помощь и поддержку на всех этапах работы, зав. кафедрой агрохимии и биохимии растений МГУ имени М.В. Ломоносова академику В.Г. Минееву и сотрудникам кафедры, особенно Е.Б. Пашкевич, за поддержку и ценные замечания. Автор выражает благодарность главному агроному Ульяновского совхоза декоративного садоводства к.б.н. А.Г. Андрееву за помощь в проведении исследования с розами, выращенными на площади теплиц хозяйства, д.б.н., профессору Г.А. Осипову за ценные советы и помощь в проведении хромато-масс-спектрометрического анализа, к.х.н. Г.Г. Растянникову и к.х.н. Н.Ю. Козловой за помощь в осуществлении хромато-масс-спектрометрического анализа летучих органических веществ роз.

## СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

### 1. Объекты и методы исследования

Исследования проводили на базе кафедры агрохимии и биохимии растений МГУ имени М.В.Ломоносова (Москва) и Ульяновского совхоза декоративного садоводства (Московская область) в 2010-2012 гг.

Для исследования использовали сорт шрабовых (спрей) роз французской селекции фирмы Meilland, обладающих слабым, невыраженным ароматом, - сорт Flash Night. Розы выращивали в контролируемых условиях на смешанном торфо-перлитном грунте. Эксперименты проводили со срезанными цветами роз (длина стебля – 20 см).

Исходя из известных биохимических путей синтеза душистых компонентов в растении, в качестве предшественников нами были выбраны следующие вещества: 1) фенилаланин, бензойная, коричная и ацетилсалициловая кислоты; 2) ацетат натрия, ацетилсалициловая кислота. Согласно выдвинутой нами гипотезе, первая группа веществ будет способствовать синтезу соединений ароматического ряда, увеличивая содержание соответствующих компонентов, вторая группа веществ будет способствовать синтезу терпенов и их производных.

Для приготовления питательных растворов, в которые помещали срезанные цветки роз, использовали раствор на основе смеси Кнопа (Выращивание растений без почвы, 1960), содержащей (г/л):  $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$  – 1,0;  $\text{MgSO}_4$  – 0,25;  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  – 0,25;  $\text{KNO}_3$  – 0,25;  $\text{FeSO}_4$  – 0,05 (контрольный вариант) с добавками предполагаемых предшественников душистых веществ. Кроме того, проводили эксперименты с комбинированными растворами, по 1 мг/мл каждого

вещества: бензойная и ацетилсалициловая кислоты (БК+АЦ), фенилаланин и ацетат натрия (ФА+АцетатNa). Растворы готовили в стеклянных сосудах емкостью 500 мл. Для исследования летучих компонентов использовали два метода твердофазной адсорбции с последующим хромато-масс-спектрометрическим анализом.

1.1. Метод твердофазной адсорбции летучих компонентов запаха с последующим хромато-масс-спектрометрическим анализом на полимерный сорбент Tenax TA

За основу были взяты методические указания по хромато-масс-спектрометрическому определению летучих органических веществ в атмосферном воздухе МУК 4.1.618-96. Метод использовали для анализа вариантов опыта с внесением фенилаланина, бензойной, коричной и ацетилсалициловой кислот, ацетата натрия, смесей фенилаланин/ацетат натрия и бензойная кислота/ацетилсалициловая кислота в концентрации 1 мг/мл каждого вещества, и временем экспозиции 24 часа. Для улавливания летучих органических соединений роз использовали полимерный сорбент (Tenax TA, зернение 0,20-0,25 мм, удельная площадь сорбции 35 м<sup>2</sup>/г). Анализ проводили на хромато-масс-спектрометре FOCUS DSQ-11 фирмы Финниган (США).

1.2. Метод твердофазной адсорбции летучих компонентов запаха с последующим хромато-масс-спектрометрическим анализом на активированный уголь Serva

За основу была взята методика хромато-масс-спектрометрического определения химических веществ, обуславливающих запаха водопроводной воды, в частности геосмина (Осипов, 2001). Метод использовали для анализа вариантов опыта с внесением фенилаланина и ацетилсалициловой кислоты в концентрациях 1 и 2 мг/мл и временем экспозиции 24 и 48 часов, бензойной кислоты в концентрации 1 мг/мл и временем экспозиции 24 часа, контрольного варианта с временем экспозиции 24 и 48 часов. В качестве сорбента для улавливания летучих органических соединений роз использовали активированный уголь марки «Serva» (удельная площадью сорбции 717,7 м<sup>2</sup>/г). Анализ проводили на хромато-масс-спектрометре HP-5973 D Agilent Technologies (США). Вещества идентифицировали с помощью базы данных газохроматографической системы NIST.

1.3. Органолептический анализ

Для оценки изменения восприятия аромата был также проведен модифицированный органолептический анализ (ГОСТ Р 53159-2008, 2009). Анализ включал опрос участников эксперимента, который проводился дважды. В ходе первого анализа группе из 20 человек было предложено оценить запах роз, находившихся в течение 24 и 48 часов в питательных растворах с внесением ацетилсалициловой, бензойной кислот, фенилаланина и без добавок (контроль). В ходе второго анализа группе людей было предложено оценить запах роз, находившихся в течение 24 часов в растворе контрольного варианта и в питательных растворах с внесением

ацетилсалициловой, бензойной и коричной кислот, фенилаланина, ацетата натрия и двух смесей – бензойная кислота с ацетилсалициловой кислотой и фенилаланин с ацетатом натрия.

#### 1.4. Обработка результатов измерений

Изменение аромата определяли по качественным (компонентный состав) и количественным (относительное содержание в смеси) характеристикам выделяемой розой смеси летучих веществ. Качественный анализ основан на сравнении времен удерживания и полных масс-спектров с соответствующими данными в электронной библиотеке масс-спектров NIST 8. Количественное содержание компонентов вычисляли по площадям газохроматографических пиков. Для статистической обработки результатов и их графического представления использовали программы «Excel 2003», «Excel 2010» и программный пакет для статистического анализа данных «STATISTICA 10».

## **2. Изменение качественных и количественных характеристик аромата срезанных роз (экспериментальная часть)**

### **2.1. Влияние предшественника, внесенного в питательный раствор, на состав смеси летучих органических соединений роз**

Всего в летучих выделениях роз идентифицировано свыше 50 органических соединений, относящихся к различным классам химических веществ, в частности алифатическим, ароматическим и терпеновым углеводородам, спиртам, эфирам, альдегидам и кетонам. Детальный анализ состава смеси летучих органических соединений различных вариантов опыта показал, что основными по содержанию индивидуальными компонентами являлись кариофиллен, 3,5-диметокситолуол,  $\gamma$ -кадинен и  $\alpha$ - и  $\beta$ -пинены, 2-бутанол, и в некоторых вариантах гексан, гексаналь и 3-гексенол. Среди характеристических компонентов – соединений с розоподобным ароматом, придающих отличительные нотки запаху роз – выделим 3,5-диметокситолуол, 1,3,5-триметоксибензол, гермакрин D (табл. 1).

**Таблица 1.** Содержание основных компонентов смеси летучих органических соединений роз, %

Варианты / Вещества	Контроль	ФА	БК	АЦ	Коричная к-та	АцетатNa	БК+АЦ	ФА+ АцетатNa
1	2	3	4	5	6	7	8	9
3,5-ДМТ	4,5 ±0,5	15,0 ±1,8	14,1 ±1,7	14,0 ±1,7	14,9 ±2,1	13,8 ±1,8	7,7 ±0,7	16,7 ±1,9
1,3,5-ТМБ	0,5 ±0,1	1,9 ±0,2	2,1 ±0,3	1,9 ±0,3	1,5 ±0,2	0,9 ±0,2	0,8 ±0,1	1,5 ±0,2
1	2	3	4	5	6	7	8	9
Кариофиллен	14,2 ±1,7	29,6 ±3,5	18,2 ±2,4	34,9 ±4,6	17,9 ±2,3	31,8 ±4,4	8,8 ±1,0	17,4 ±2,2
$\gamma$ -Кадинен	8,4 ±0,8	14,4 ±1,4	12,2 ±1,6	15,1 ±2,0	8,1 ±1,0	12,8 ±1,7	9,1 ±1,0	12,7 ±1,6
Гермакрин Д	1,5 ±0,1	3,9 ±0,5	3,9 ±0,5	5,5 ±0,8	2,9 ±0,4	2,8 ±0,4	0,7 ±0,1	2,7 ±0,4

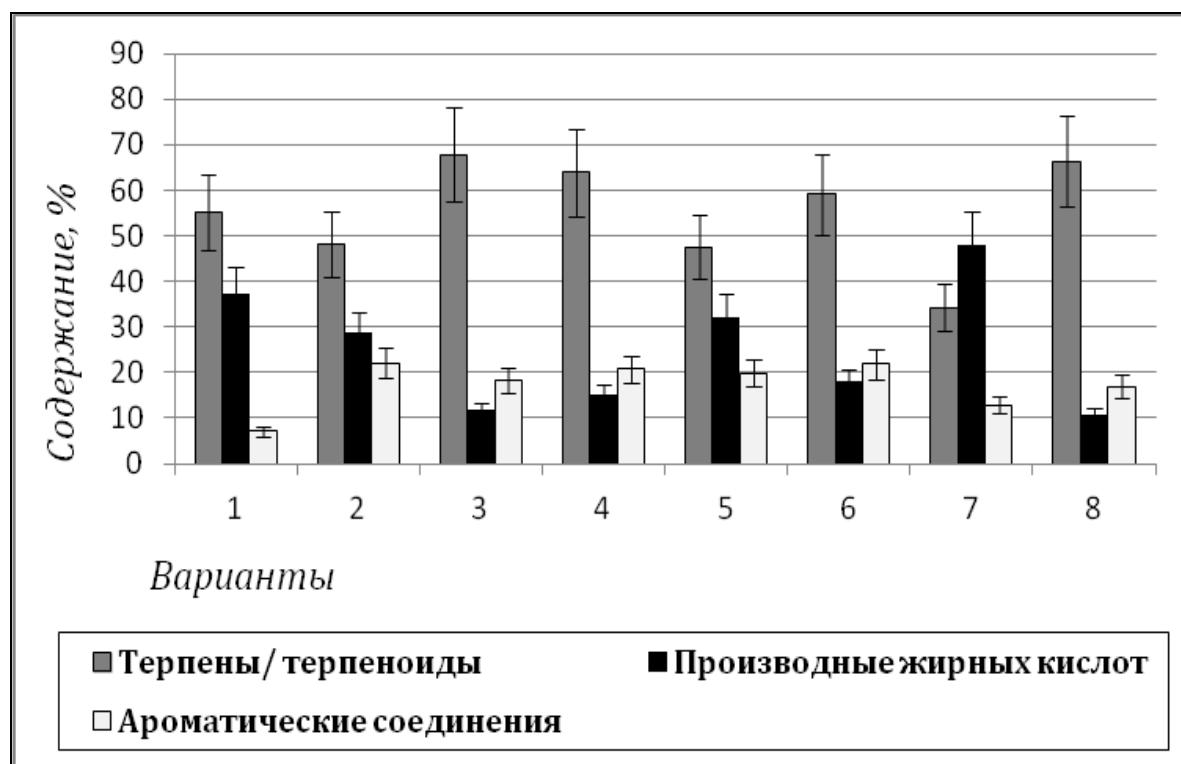


1	2	3	4	5	6	7	8	9
$\alpha$ -Пинен	11,9 $\pm$ 1,3	5,5 $\pm$ 0,6	4,0 $\pm$ 0,6	3,3 $\pm$ 0,4	5,7 $\pm$ 0,7	4,6 $\pm$ 0,5	5,1 $\pm$ 0,7	7,4 $\pm$ 0,8
$\beta$ -Пинен	7,8 $\pm$ 1,0	3,9 $\pm$ 0,4	3,1 $\pm$ 0,4	2,3 $\pm$ 0,3	3,1 $\pm$ 0,4	2,5 $\pm$ 0,4	4,2 $\pm$ 0,5	5,4 $\pm$ 0,6
2-Бутанол	7,9 $\pm$ 0,7	2,2 $\pm$ 0,2	3,2 $\pm$ 0,4	4,5 $\pm$ 0,7	8,2 $\pm$ 1,2	3,4 $\pm$ 0,4	9,7 $\pm$ 1,2	8,0 $\pm$ 1,0
Гексан	5,0 $\pm$ 0,5	9,9 $\pm$ 0,9	20,7 $\pm$ 2,5	2,0 $\pm$ 0,3	7,3 $\pm$ 1,0	2,6 $\pm$ 0,3	5,6 $\pm$ 0,7	3,6 $\pm$ 0,5
Гексаналь	—*	—	—	—	9,2 $\pm$ 1,4	—	10,9 $\pm$ 1,6	0,8 $\pm$ 0,1
3-Гексенол	10,0 $\pm$ 0,8	0,7 $\pm$ 0,1	1,1 $\pm$ 0,2	2,0 $\pm$ 0,3	1,3 $\pm$ 0,2	2,4 $\pm$ 0,3	2,7 $\pm$ 0,3	1,7 $\pm$ 0,2

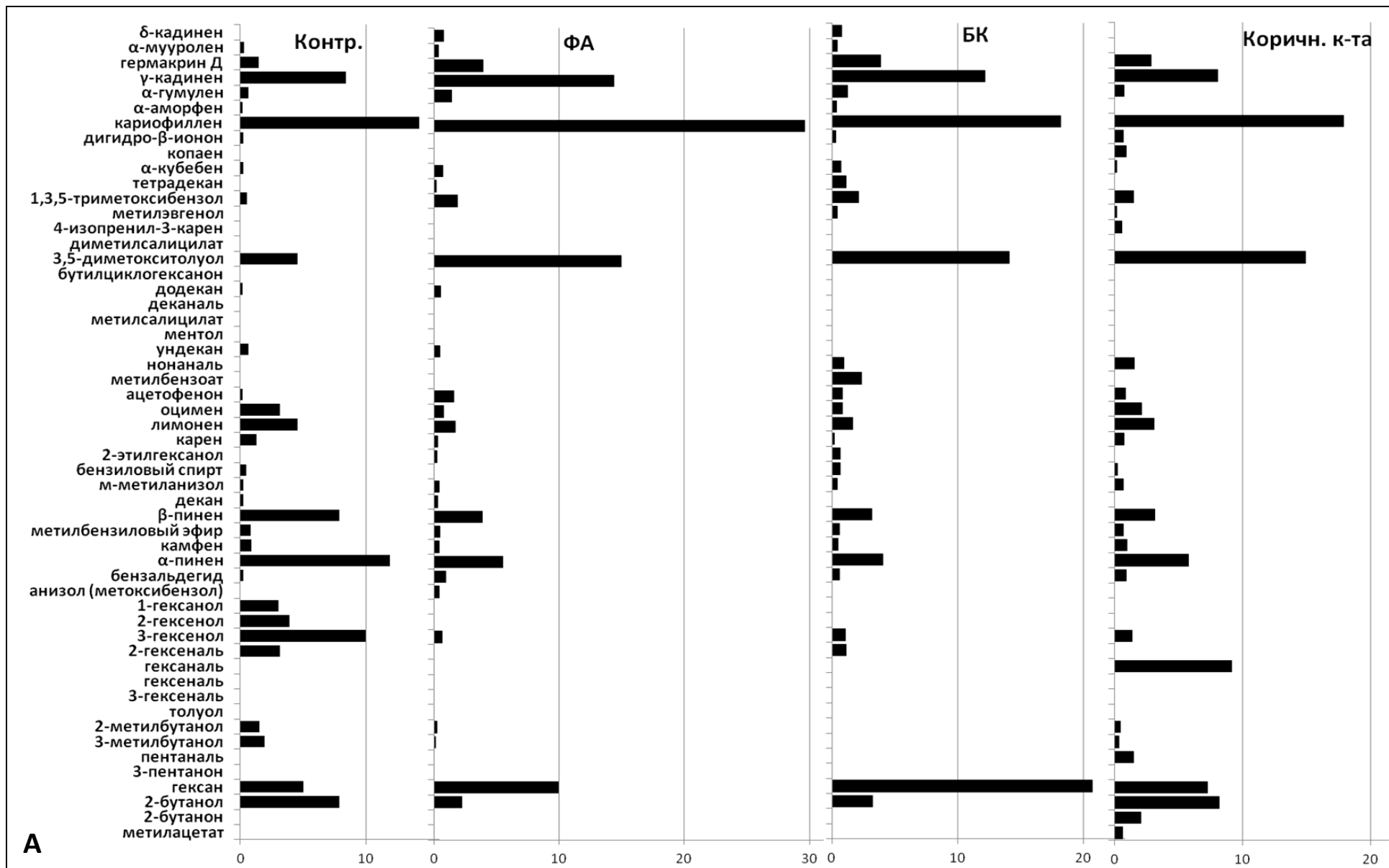
Примечание: \*- соединение не обнаружено.

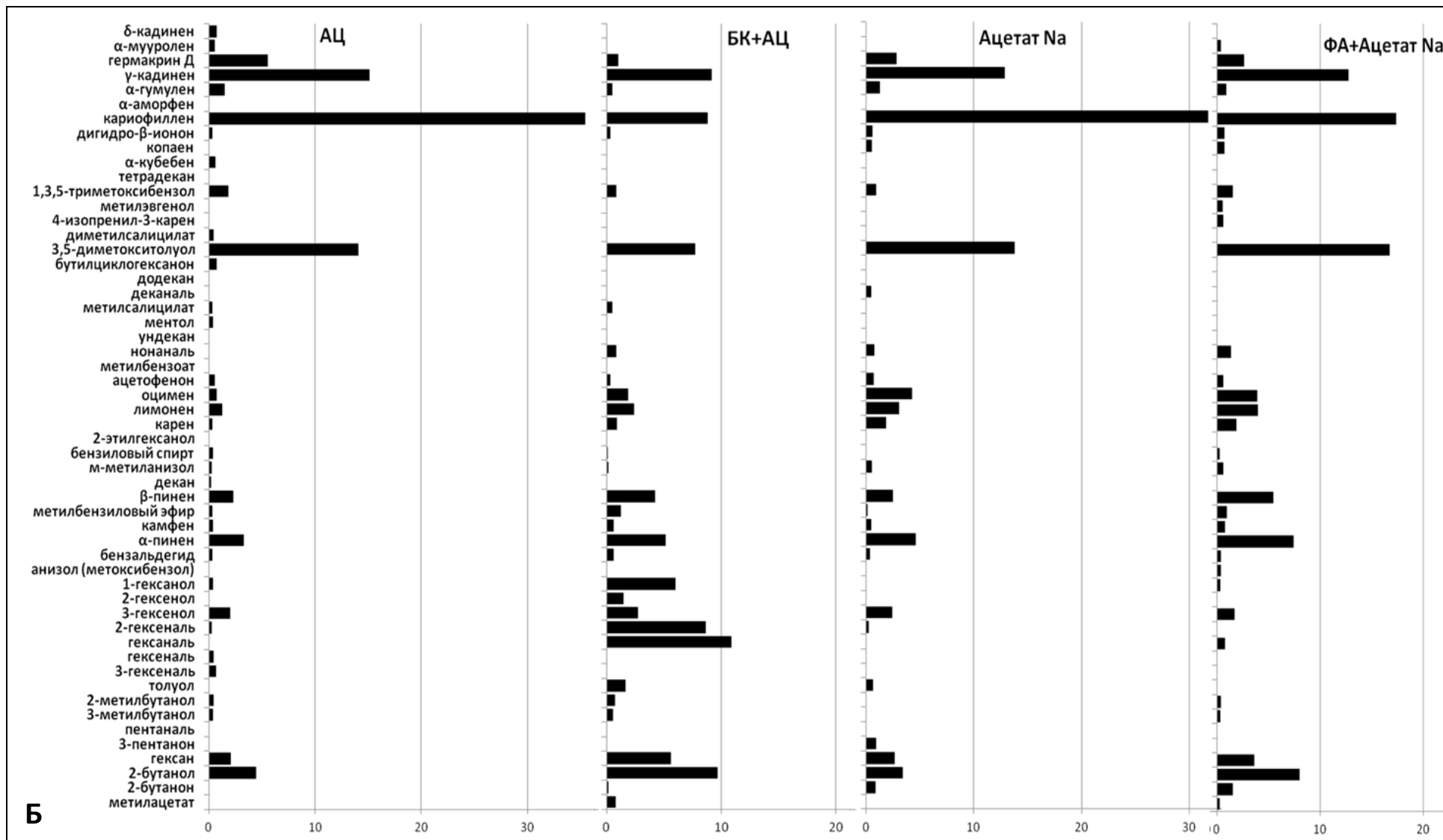
### Контрольный вариант

В контрольном варианте большую часть смеси занимают терпены и их производные – 55% (рис. 1). Следующая по содержанию группа соединений – производные жирных кислот (37%). Более 75% из последних занимают спирты, 16,3% - углеводороды и 8,6% - альдегиды и кетоны. Ароматические соединения занимают 7% от суммарного содержания. Из них более 85% представлены эфирами. В целом, соотношение основных биохимических групп соединений (терпены и терпеноиды, производные жирных кислот, ароматические соединения) выглядит следующим образом – 7,8:5,3:1 (рис. 1).



**Рисунок 1.** Изменение содержания основных групп летучих органических соединений, выделяемых растениями (розы), в зависимости от добавок, внесенных в питательный раствор: 1 - контроль, 2 - бензойная кислота, 3 - ацетилсалициловая кислота, 4 - фенилаланин, 5 - коричневая кислота, 6 - смесь фенилаланина с ацетатом натрия, 7 - смесь бензойной и ацетилсалициловой кислот, 8 - ацетат натрия





**Рис. 2.** Компонентный состав аромата роз, %: **А** – в контрольном варианте (смесь Кнопа), при внесении в раствор фенилаланина, бензойной и коричной кислот, **Б** – при внесении в питательный раствор ацетилсалициловой кислоты, смеси бензойной и ацетилсалициловой кислот и смеси фенилаланина с ацетатом натрия (по 1 мг / мл).

### Ацетилсалициловая кислота

Основную часть (более 67%) компонентов аромата роз варианта с внесением ацетилсалициловой кислоты как предшественника синтеза ЛОС занимают терпены и терпеноиды, преимущественно их неокисленные формы (рис. 1). Ароматические соединения занимают около 18%, производные жирных кислот – 12% от суммарного содержания летучих органических соединений (рис. 2). Как и в контрольном варианте основная часть ароматических соединений представлена эфирами (около 94%). Группу производных жирных кислот составляют спирты (65%), углеводороды (18,8%), альдегиды и кетоны (16,2%). При сравнении полученных данных с контрольным вариантом выявлено различие в содержании одного из характеристических компонентов аромата роз – 3,5-ДМТ. Его содержание в смеси ЛОС роз варианта с внесением ацетилсалициловой кислоты более чем в 3 раза выше сравнительно с розами, находившимися в питательном растворе без добавок. Ацетат-ион, входящий в состав кислоты, принимает значительное участие в протекании процессов биосинтеза в растении, в том числе синтеза компонентов аромата. Как было отмечено выше, уксусная кислота является предшественником жирных кислот, липидов и др. органических веществ растений (Виноградов, 2006). Салициловая кислота, имея в своей структуре бензойное кольцо, может способствовать синтезу ароматических соединений. При анализе смеси ЛОС, показано, что содержание ароматических соединений в обсуждаемом варианте более чем в 2,5 раза выше, чем в контроле. Следует отметить, что концентрация циклического терпена – гермакрин D (в чистом виде имеет древесный, с пряными нотками запах, иногда отмечаемый как розоподобный) максимальна в сравнении с другими вариантами.

### Фенилаланин

В варианте с внесением фенилаланина в качестве предшественника большую часть смеси занимают терпены (не окисленные формы), как и в контрольном варианте (рис. 1). Однако, в отличие от контроля содержание ароматических соединений выше, чем производных жирных кислот (20,7 и 15,0%, соответственно). Так как фенилаланин применялся как предшественник синтеза ароматических соединений, в частности фенилпропаноидов, отмеченное выше изменение в соотношении групп относительно контрольного варианта можно рассматривать как результат влияния фенилаланина на биохимические процессы в растении, ведущие к увеличению ароматических компонентов аромата. Основная часть ароматических соединений, как и в контроле, представлена эфирами. Более 75% производных жирных кислот составляют углеводороды: декан, тетрадекан, додекан, ундекан, гексан; остальную часть – алифатические одноатомные спирты с небольшим числом атомов углерода. Альдегиды и кетоны в смеси ЛОС роз этого варианта обнаружены не были. Как показал сравнительный анализ полученных данных с данными контрольного варианта, доля одного из основных характеристических компонентов

смеси ЛОС роз – 3,5-ДМТ значительно выше в варианте с внесением фенилаланина. Это можно рассматривать как результат действия этого предшественника на процессы биосинтеза 3,5-диметокситолуола в растении.

#### Бензойная кислота

Наибольшим содержанием в смеси ЛОС роз варианта с внесением бензойной кислоты обладает группа терпенов и терпеноидов (48%). Ароматические соединения занимают 22%, производные жирных кислот – более 28%. Таким образом, в сравнении с распределением веществ по трем основным группам органических соединений контрольного варианта распределение в варианте с бензойной кислотой более равномерно (рис. 1). Ароматические соединения, как и в предыдущих вариантах представлены преимущественно эфирами (90%). Алифатические углеводороды составляют более 75% группы производных жирных кислот, спирты – 17%, альдегиды и кетоны – 7% (рис. 2). В целом, содержание ароматических соединений, в частности 3,5-ДМТ, выше, чем в контрольном варианте, что может быть следствием влияния бензойной кислоты как предшественника синтеза ароматических соединений на их биосинтез в растении. Кроме того, отмечено повышенное содержание предельного углеводорода гексана по сравнению с его содержанием в композициях ЛОС других вариантов.

#### Коричная кислота

Распределение летучих органических соединений роз по группам варианта с внесением коричной кислоты аналогично распределению по группам в варианте с внесением бензойной кислоты (рис. 1). Обе эти кислоты являются близкими промежуточными продуктами в биосинтезе ароматических соединений, чем можно объяснить сходство их влияния на состав смеси ЛОС роз обоих вариантов. Наибольшим содержанием обладает группа терпенов и терпеноидов (47,6%). Следующая по количественному содержанию группа соединений – производные жирных кислот – занимает 32,3% смеси. Наибольшее содержание в этой группе имеют альдегиды и кетоны (46%), спирты занимают 31% группы, углеводород гексан – 22%, метилацетат, обладающий фруктовым с эфирным оттенком запахом, – чуть более 1% (The good scents company, <http://www.thegoodscentscompany.com>). Ароматические соединения, представленные преимущественно эфирами, занимают 20% от суммарного содержания ЛОС (рис. 8).

В целом, доля ароматических соединений в смеси летучих компонентов варианта с внесением коричной кислоты почти в 3 раза выше, чем контрольного варианта (рис. 1), что является закономерным, принимая во внимание предполагаемое влияние коричной кислоты как предшественника на синтез ароматических структур в растении. В связи с этим стоит отметить, что содержание 3,5-ДМТ в композиции компонентов аромата более чем в 3 раза выше, чем в контрольном варианте (рис. 2).

### Ацетат натрия

Соотношение основных биохимических групп соединений в варианте с внесением ацетата натрия аналогично соотношению в варианте с ацетилсалициловой кислотой (рис. 1). Оба соединения содержат ацетат-ион, который, влияя на протекание биохимических процессов в растениях, по всей видимости, обуславливает сходство в распределении веществ по группам. Сравнительный анализ соотношения основных биохимических групп соединений (производные жирных кислот, ароматические соединения, терпены и терпеноиды) выявил сходство обоих вариантов – с внесением ацетата натрия и с внесением ацетилсалициловой кислоты (1:1,6:6,2 и 1:1,6:5,8, соответственно). Показано, что преобладающей фракцией в варианте с ацетатом натрия являются терпены и терпеноиды (66,4%). Ароматические соединения представлены в основном эфирами и занимают 16,9% смеси. Группа производных жирных кислот на 54% состоит из спиртов, на 21% из альдегидов и кетонов и 24% занимает гексан как представитель углеводов. В целом на производные жирных кислот приходится 10,7% от суммарного содержания компонентов. При сравнении содержания групп веществ в вариантах с внесением ацетилсалициловой кислоты и ацетата натрия как предшественников синтеза терпенов и терпеноидов значимой разницы не отмечено.

Для рассмотрения влияния предшественников - представителей разных биохимических путей синтеза, на компонентный состав аромата роз были составлены две смеси.

### Смесь бензойной и ацетилсалициловой кислот

Распределение летучих органических соединений роз варианта с внесением смеси бензойной и ацетилсалициловой кислот по основным биохимическим классам значительно отличается от распределения, описанного для контрольного варианта, преобладанием группы производных жирных кислот (48%) над терпенами и их окисленными производными (34,3%) (рис. 1). Производные жирных кислот представлены спиртами (44%), альдегидами и кетонами (43%), углеводородами (гексан – 11,6%) и алифатическим эфиром – метилацетатом (1,4%) (табл.П.2). Ароматические соединения, с преобладанием эфиров (около 80%) составляют 12,9% суммарного содержания ЛОС. Таким образом, основное отличие смеси ЛОС варианта с совместным внесением бензойной и ацетилсалициловой кислот от контрольного заключалось в большем вкладе альдегидов и кетонов (более чем в 6 раз) в суммарное содержание компонентов, что, в итоге, повлияло на преобладание группы производных жирных кислот, характерное только для этого варианта.

Сравнительный анализ компонентного состава обсуждаемого варианта с контрольным показал преобладание производных жирных кислот среди основных выделенных компонентов. При этом вклад 3,5-ДМТ в смесь ЛОС в варианте с внесением смеси почти в 2 раза меньше по

сравнению с отдельным внесением ацетилсалициловой и бензойной кислот. Вклад предельных и непредельных спиртов, гексаналя, 2-гексеналя в суммарное содержание ЛОС роз, находившихся в растворе со смесью предшественников, выше, чем с отдельным их внесением. Описанная ситуация может свидетельствовать о преимущественном влиянии обсуждаемой смеси предшественников на протекание процессов трансформации жирных кислот (в основном C<sub>18</sub>) и их производных в летучие соединения при участии липоксигеназ (Biology of Floral Scent, 2006), чем на процесс образования ароматических структур. Так как расщепление идет, как правило, на C<sub>12</sub> и C<sub>6</sub> соединения, шестиатомные предельные и непредельные альдегиды, кетоны и спирты – распространенные компоненты цветочных летучих органических соединений.

#### Смесь фенилаланина и ацетата натрия

Вторая смесь предшественников состояла из фенилаланина и ацетата натрия. Распределение летучих органических соединений роз обсуждаемого варианта аналогично распределению в варианте с внесением фенилаланина (рис. 1). Преобладающей группой соединений является группа терпенов и терпеноидов (59,2%). Следующая по количественному содержанию – группа ароматических соединений, большую часть которой (92%) занимают эфиры. Производные жирных кислот представлены спиртами (10,6%), углеводородами (19,8%), альдегидами и кетонами (4,4%), алифатическим эфиром – метилацетатом (0,2%).

Сравнительный анализ соотношения вклада основных групп соединений (производные жирных кислот, ароматические соединения, терпены и терпеноиды) в суммарное содержание компонентов аромата также выявил сходство обсуждаемого варианта с вариантом, где в питательный раствор вносился фенилаланин отдельно (1:1,2:3,3 и 1:1,4:4,3, соответственно) (рис. 1). Однако в варианте с фенилаланином более 75% производных жирных кислот были представлены углеводородами: декан, тетрадекан, додекан, ундекан, гексан; остальная часть – алифатическими одноатомными спиртами с небольшим числом атомов углерода. Альдегиды и кетоны в смеси ЛОС роз этого варианта обнаружены не были. Таким образом, на состав компонентов аромата рассматриваемого варианта оказывают влияния оба предшественника – фенилаланин (общее распределение по группам и список основных компонентов смеси) и ацетат натрия (увеличение доли спиртов, альдегидов и кетонов в группе производных жирных кислот).

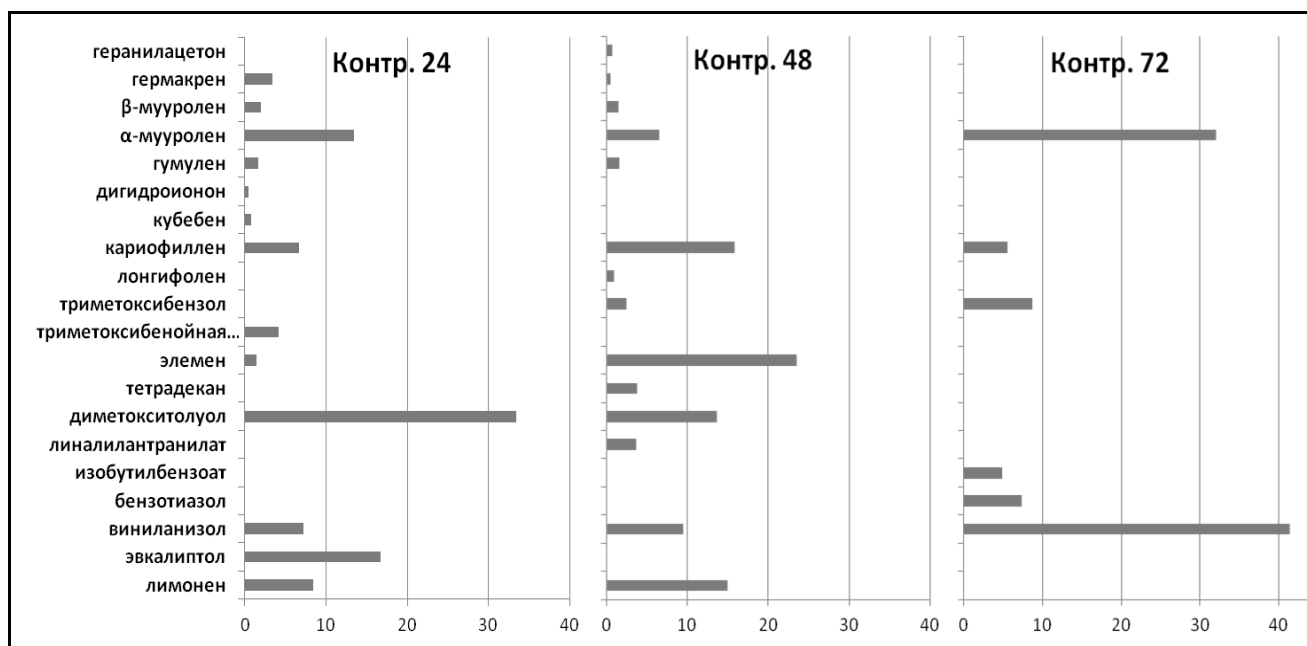
Добавление в вариант с фенилаланином ацетата натрия вызвало увеличение относительного содержания производных жирных кислот по сравнению с отдельным внесением фенилаланина (рис. 1), что согласуется с теоретической схемой биосинтеза. По сравнению с одиночным внесением ацетата натрия вариант с добавлением в питательный раствор смеси ацетата и фенилаланина отличается, кроме того, увеличением доли ароматических соединений,

что согласуется с выдвинутой ранее гипотезой о влиянии фенилаланина на синтез ароматических соединений.

## 2.2. Изменения смеси летучих органических соединений розы, связанные со временем экспозиции растений в питательном растворе

### Питательный раствор без добавок

При сравнении контрольных вариантов с разным временем экспозиции растений в растворе видно, что общее количество обнаруженных летучих соединений через 24 и 48 часов не изменяется, а на третьи сутки сокращается вдвое (рис. 3).



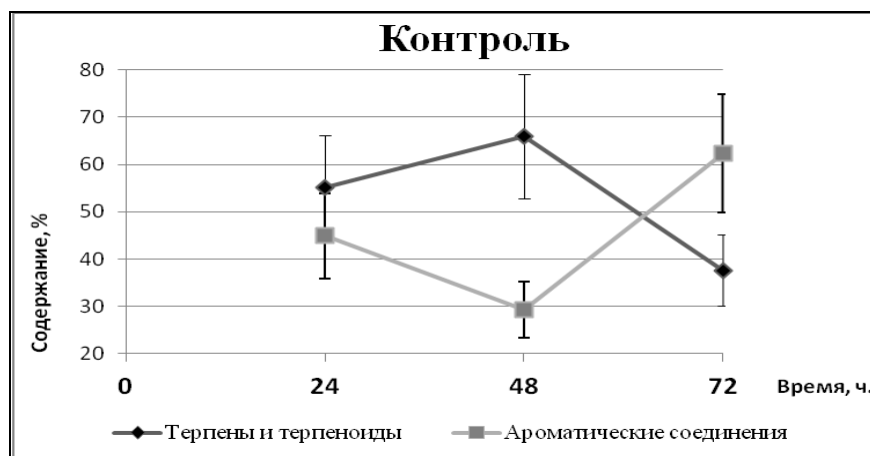
**Рисунок 3.** Компонентный состав аромата роз (%), находившихся в питательном растворе (контрольный вариант опыта) в течение 24, 48 и 72 часов

Содержание 3,5-ДМТ постепенно уменьшается, а 1,3,5-ТМБ – возрастает. Увеличивается доля терпенов и терпеноидов на вторые сутки, что, вероятно, связано с преимущественным протеканием мевалонатного и метилэритритол-фосфатного путей биосинтеза. Поскольку субстраты (углеводы, пируват, ацетил-коэнзим А), необходимые для осуществления названных процессов на вторые сутки еще доступен в растении, в отличие от субстрата для шикиматного пути. Резкое сокращение летучих компонентов аромата на третьи сутки можно объяснить истощением необходимых исходных веществ для протекания биосинтеза большинства вторичных метаболитов. При этом увеличивается доля α-мууролена и виниланизола, что указывает на то, что процессы синтеза летучих компонентов, идущие в растении на третьи сутки в контрольном варианте, преимущественно направлены на образование этих соединений, по-видимому,



обладающих повышенной антиоксидантной активностью и увеличивающих устойчивость растений. Появляются и другие фенольные соединения (изобутилбензоат, бензотиазол), которые не были идентифицированы в первые два дня экспозиции.

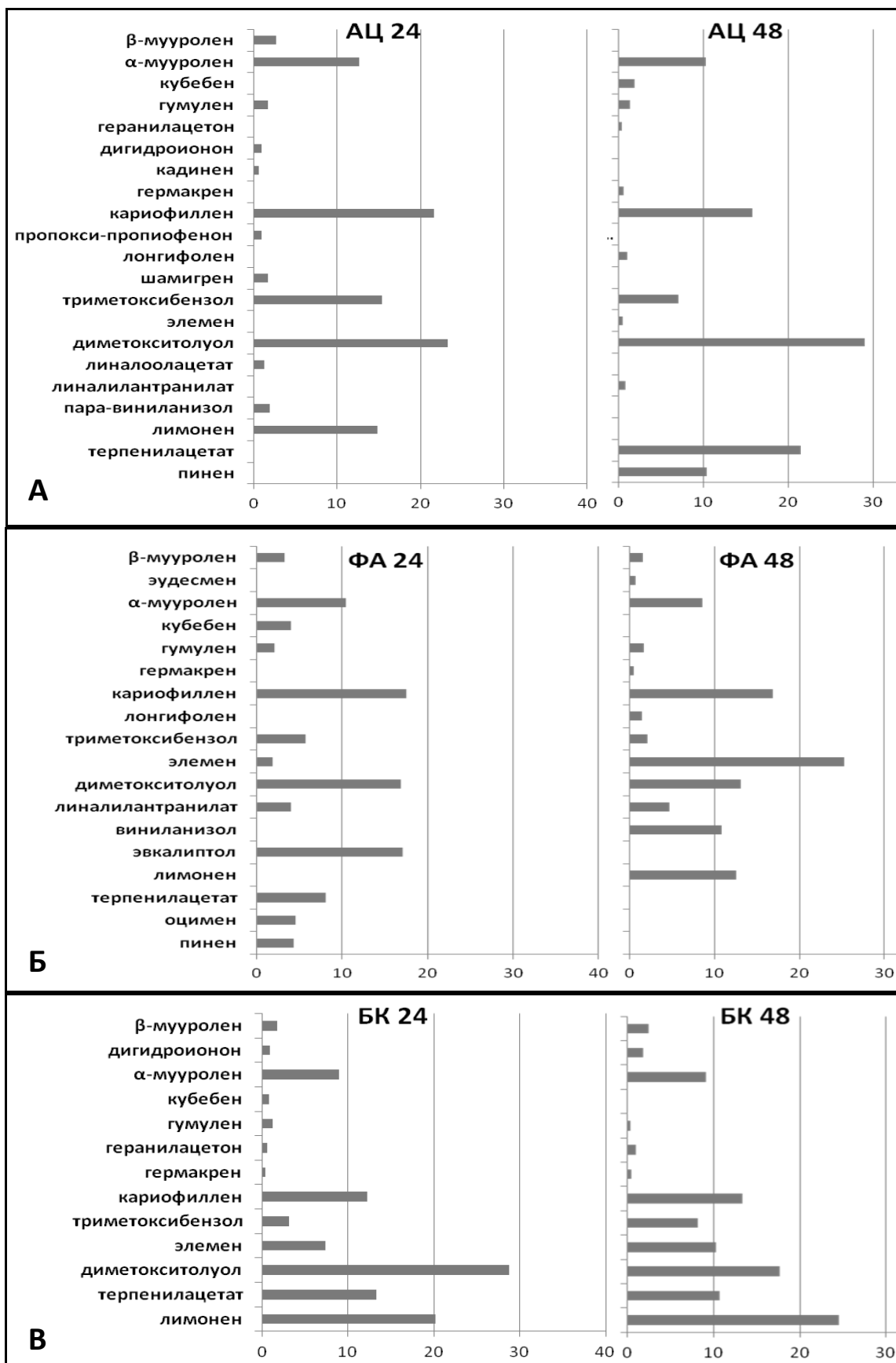
С увеличением времени экспозиции растений в растворах изменяется также качественный состав и соотношение основных групп (терпены/терпеноиды и ароматические соединения) компонентов аромата (рис. 4). Спустя сутки после начала эксперимента содержание терпенов и ароматических соединений одинаково, через 48 часов преобладает группа терпенов и терпеноидов (65,7%), через 72 часа содержание терпеновых компонентов снижается, что приводит к преобладанию группы ароматических соединений (62,4%).



**Рисунок 4.** Содержание основных биохимических групп летучих органических соединений роз (%) в контрольном варианте, время экспозиции 24, 48 и 72 часа

Варианты с внесением ацетилсалициловой, бензойной кислот и фенилаланина как предшественников синтеза одоратных веществ розы

Общее количество идентифицированных летучих веществ розы в вариантах с внесением по 1 мг/мл предшественников (ацетилсалициловая, бензойная кислоты, фенилаланин) с течением времени (24 и 48 часов) значительно не изменяется (рис. 5). Распределение веществ по группам в вариантах с ацетилсалициловой кислотой и фенилаланином с течением времени не изменяется. В варианте с внесением бензойной кислоты спустя 48 часов с начала экспериментов начинает преобладать группа терпенов и их производных, как и в контрольном варианте. Возможно, это связано с тем, что бензойная кислота, как предшественник биосинтеза ароматических соединений, на вторые сутки содержится в недостаточном количестве для поддержания синтеза на том же уровне, который был спустя 24 часа. Так, содержание 3,5-ДМТ на вторые сутки заметно сокращается по сравнению с его уровнем после 24 часов (17,7 и 28,8 %, соответственно). Это приводит к уменьшению содержания ароматических соединений и, следовательно, увеличению доли группы терпенов и терпеноидов.



**Рисунок 5.** Компонентный состав аромата роз (%) при внесении в питательный раствор 1 мг/мл: **А** - ацетилсалициловой кислоты, **Б** – фенилаланина, **В** – бензойной кислоты, время экспозиции растений в растворе 24 и 48 часов

Однако содержание второго компонента, отвечающего за характерный «чайный» аромат роз - 1,3,5-ТМБ, на вторые сутки увеличивается (с 3,2 до 8,2 %), как и в контрольном варианте (рис. 3, рис. 5).

В целом, структура смеси летучих органических соединений роз в варианте с внесением бензойной кислоты и временем экспозиции 24 и 48 часов характеризуется наибольшими пиками одних и тех же веществ: диметокситолуол, лимонен, кариофиллен, терпенилацетат и  $\alpha$ -мууролен (рис. 5). Содержание 3,5-ДМТ в вариантах с внесением ацетилсалициловой кислоты и фенилаланина после 48 часов нахождения роз в растворах, в отличие от контрольного варианта и варианта с внесением бензойной кислоты, существенно не изменяется по сравнению с первым измерением (спустя 24 часа), а содержание 1,3,5-ТМБ уменьшается более чем в 2 раза (рис. 5).

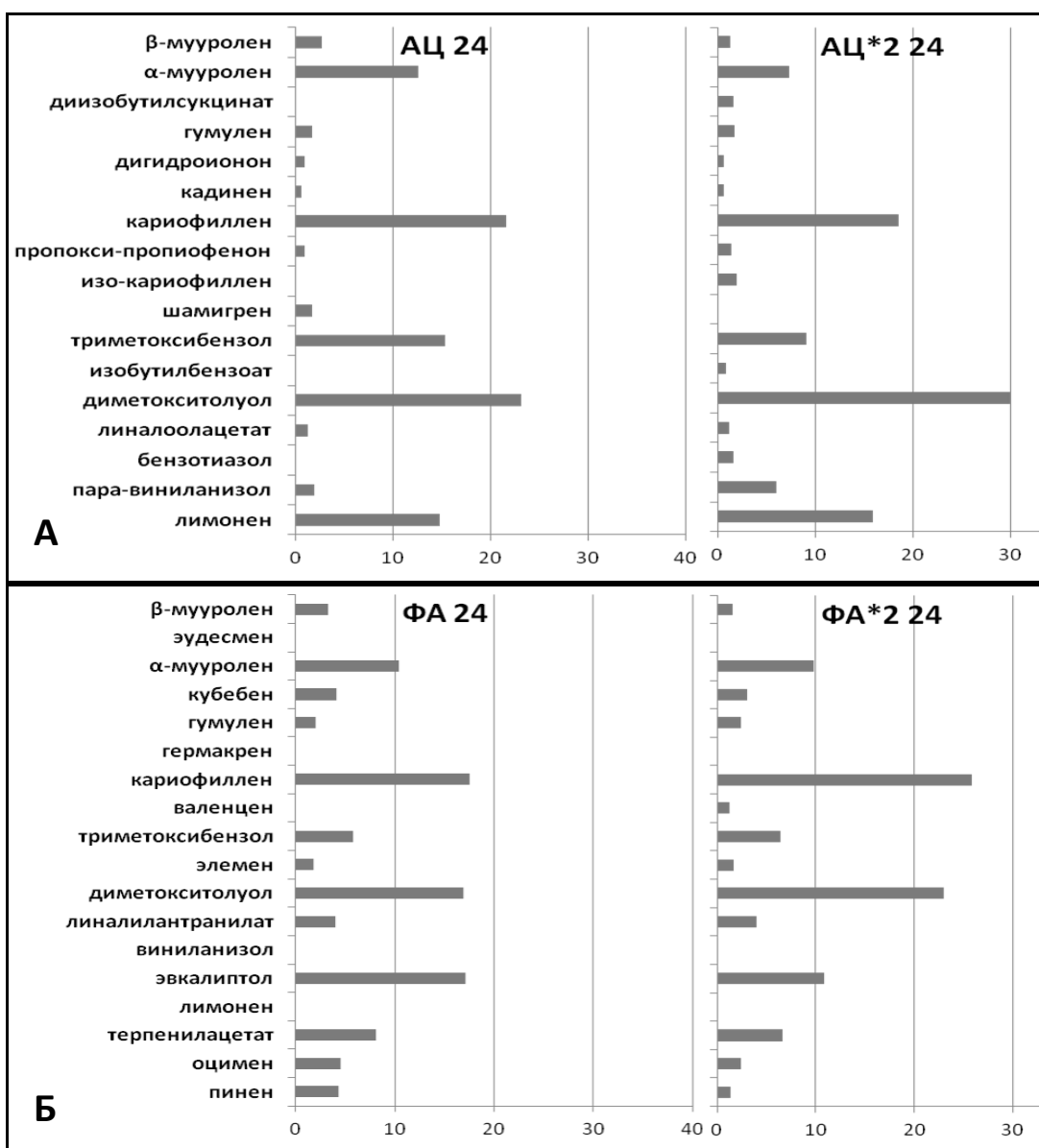
В вариантах с внесением ацетилсалициловой кислоты наибольшие пики соответствуют одним и тем же веществам: 3,5 – ДМТ, кариофиллен, лимонен и  $\alpha$ -мууролен (рис. 14А), как на первые, так и на вторые сутки. При этом соотношение перечисленных соединений также практически не изменяется. При внесении фенилаланина с течением времени происходит изменение структуры смеси летучих веществ. Основные пики в варианте с 24-часовой экспозицией принадлежат кариофиллену (17,5 %), эвкалиптолу (17,1 %) и 3,5-ДМТ (16,9 %). В варианте с 48-часовой экспозицией наибольшие пики соответствуют (в %) элементу (25,3), кариофиллену (16,9), 3,5-ДМТ (13,1) и лимонену (12,6).

### **2.3. Влияние концентрации предшественника на состав смеси летучих органических соединений, выделяемых цветками роз**

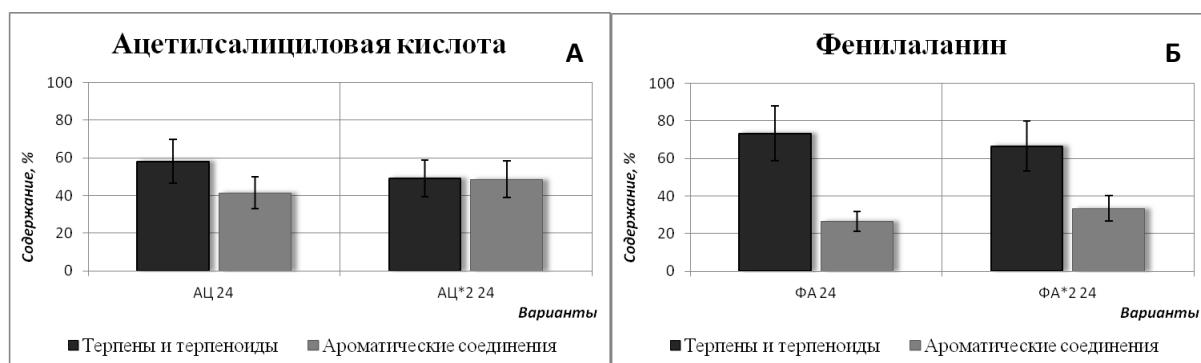
Увеличение концентрации с 1 до 2 мг/мл ацетилсалициловой кислоты и фенилаланина не привело к изменению общего количества идентифицированных компонентов в смеси летучих веществ роз этих вариантов при нахождении растений в растворе в течение 24 часов (рис. 6).

Показано, что наибольшее содержание в варианте с ацетилсалициловой кислотой имеет 3,5-ДМТ, содержание которого значимо не изменяется при увеличении концентрации (рис.6А). Доля 1,3,5-ТМБ в смеси веществ существенно сокращается при увеличении концентрации предшественника (с 15,4 до 9,0 %, соответственно). Уменьшается относительное содержание сесквитерпенов  $\alpha$ - и  $\beta$ -мууролена. Доля ароматического эфира *n*-паравиниланизола в суммарном содержании компонентов, наоборот, увеличивается (1,9 и 6,0 %).

В варианте с внесением ацетилсалициловой кислоты в качестве предшественника более половины летучих соединений представлены терпенами, однако, по количественному соотношению компонентов группа терпенов и терпеноидов и группа ароматических соединений значимо не отличаются независимо от концентрации кислоты (рис. 7А).



**Рисунок 6.** Компонентный состав аромата роз (%) в варианте с внесением 1 и 2 мг/мл А-ацетилсалициловой кислоты, Б- фенилаланина, время экспозиции 24 часа



**Рисунок 7.** Содержание основных биохимических групп летучих органических соединений роз (%) в варианте с внесением 1 и 2 мг/мл А- ацетилсалициловой кислоты, Б- фенилаланина, время экспозиции 24 часа

Доля 1,3,5-ТМБ и 3,5-ДМТ в смеси летучих соединений роз вариантов с внесением фенилаланина при увеличении концентрации предшественника значимо не изменяется. В составе смеси летучих компонентов преобладает группа терпенов и терпеноидов, при увеличении концентрации фенилаланина это соотношение сохраняется (рис. 7Б). Стоит отметить, что компонентный состав смеси пахучих веществ роз вариантов с внесением ацетилсалициловой кислоты и фенилаланина имеет одинаковую структуру вне зависимости от концентрации внесенного предшественника. Так, для роз варианта с одинарной и двойной дозами ацетилсалициловой кислоты основными компонентами аромата являются лимонен, 3,5-ДМТ, 1,3,5-ТМБ, кариофиллен и  $\alpha$ -мууролен (рис.6А). Наибольшие пики в вариантах с концентрацией фенилаланина 1 и 2 мг/мл соответствуют одним и тем же соединениям: кариофиллен, 3,5-ДМТ, эвкалиптол,  $\alpha$ -мууролен (рис.6Б). Количественное соотношение перечисленных компонентов также практически не изменяется (рис.6).

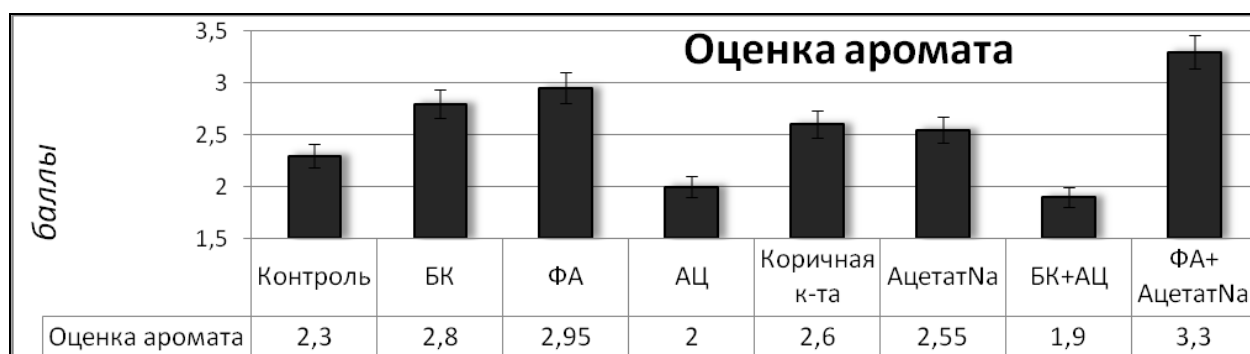
Таким образом, выявить закономерности в изменении состава смеси летучих органических соединений роз в зависимости от исследуемых концентраций предшественника при экспозиции растений в растворе в течение 24 часов не удалось.

#### **2.4. Сравнение методов сорбции**

Рассмотренные в разделах 2.1 и 2.2 результаты анализов показали, что применение полимерного сорбента Tenax для улавливания летучих соединений роз позволяют идентифицировать большее количество соединений в образце, чем использование в качестве сорбента активированного угля. В первой серии экспериментов было идентифицировано более 50 органических соединений, относящихся к различным классам химических веществ, тогда как общее количество компонентов, описанное во второй серии экспериментов, чуть более 30. Таким образом, использование первой методики улавливания компонентов аромата роз дает больше информации о составе изучаемой композиции, а следовательно, происходящих в нем изменениях.

#### **2.5. Органолептический анализ**

Сопоставление полученных масс-спектрометрическим методом результатов с данными органолептического анализа вели по нескольким показателям: содержание основных характеристических компонентов аромата – 3,5-ДМТ, 1,3,5-ТМБ и гермакрин D и соотношение основных биохимических групп соединений разных вариантов (рис. 1). Было показано, что характер распределения гермакрин D по вариантам соответствует распределению оценок, т.е. чем больше содержание гермакрин D, тем большую оценку имеет аромат роз этого варианта, за исключением варианта с внесением ацетилсалициловой кислоты, который отличался обратным соотношением (рис. 8, рис. 9).

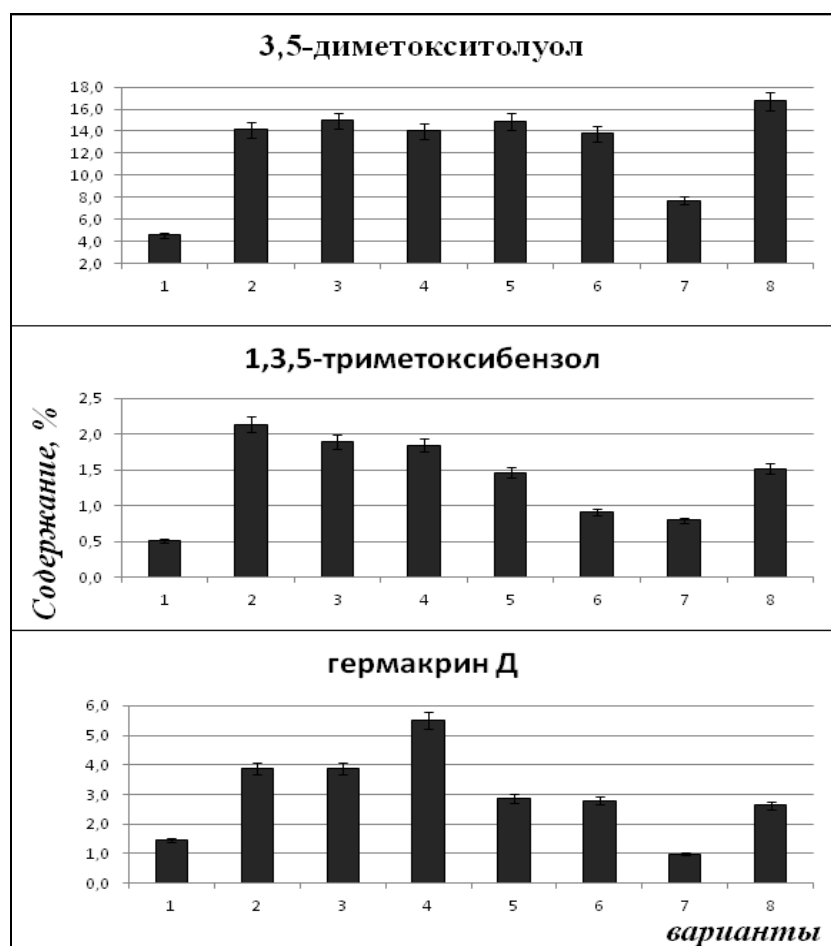


**Рисунок 8.** Изменение восприятие аромата роз в зависимости от химического состава внесенной в питательный раствор добавки, баллы

Варианты с наибольшим содержанием 1,3,5-триметоксибензола – БК, ФА и АЦ. Из них БК и ФА имеют высокие оценки по восприятию аромата, тогда как аромат варианта АЦ не был отмечен как приятный. При этом вариант с наивысшей оценкой (3,3) по восприятию аромата – смесь фенилаланина с ацетатом натрия – имеет средние показатели по содержанию 1,3,5-ТМБ (рис. 8).

Наибольшее содержание 3,5-диметокситолуола отмечено в вариантах с внесением смеси фенилаланина и ацетата натрия (16,7%), фенилаланина отдельно (15,0%) и коричной кислоты (14,9). При этом наивысшие оценки по аромату имеют варианты с внесением смеси фенилаланина и ацетата натрия, фенилаланина отдельно и бензойной кислоты. Содержание 3,5-диметокситолуола в варианте с внесением коричной кислоты близко к его содержанию в варианте с фенилаланином, однако запах роз этого варианта хоть и был сильным, но имел «лекарственный» оттенок, не ассоциирующийся с цветочным. Аромат роз варианта с внесением ацетилсалициловой кислоты имеет одну из наименьших оценок, однако, содержание 3,5-ДМТ в смеси ЛОС такое же, как в варианте с бензойной кислотой. Таким образом, содержание 3,5-диметокситолуола – важный, но не единственный показатель, влияющий на целостное восприятие аромата роз; выявить четкую зависимость интенсивности и приятности аромата роз от содержания в смеси ЛОС 3,5-ДМТ, 1,3,5-ТМБ и гермакрин D не удалось. Тем не менее, стоит отметить, что вариант со смесью бензойной и ацетилсалициловой кислот характеризовался низким содержанием перечисленных компонентов и имел самую низкую оценку по восприятию аромата. Похожая картина наблюдалась и для контрольного варианта.

Соотношение основных биохимических групп соединений в варианте с совместным внесением фенилаланина и ацетата натрия аналогично соотношению в варианте с отдельным внесением фенилаланина, ацетилсалициловой кислоты и ацетата натрия (рис. 1). В то же время оценки аромата, полученные розами этих вариантов, заметно различаются (рис. 8).



**Рисунок 9.** Содержание основных характеристических компонентов аромата роз вариантов: 1 - контроль, 2 - бензойная кислот, 3 - фенилаланин, 4 - ацетилсалициловая кислота, 5 - коричная кислота, 6 - ацетат натрия, 7 - смесь бензойной и ацетилсалициловой кислот, 8 - смесь фенилаланина с ацетатом натрия

Распределение веществ по группам в вариантах с внесением бензойной и коричной кислот отличаются преобладанием производных жирных кислот над ароматическими соединениями. Однако это различие значительно меньше, чем в контрольном варианте. Оценки, полученные розами этих вариантов, близки (2,8 и 2,6, соответственно). Единственный вариант с наибольшим содержанием производных жирных кислот – смесь бензойной и ацетилсалициловой кислот – имеет наименьшую оценку по восприятию аромата. Таким образом, между характером соотношения основных биохимических групп соединений и оценкой восприятия аромата можно проследить следующую закономерность: наиболее приятный аромат имеют розы вариантов с преобладанием группы терпенов и терпеноидов и близким содержанием производных жирных кислот и ароматических соединений. При преобладании производных жирных кислот аромат оценивается как наименее приятный.

## Выводы

1. Метод улавливания летучих органических соединений роз с использованием полимерного сорбента Tenax TA – наиболее информативен для изучения состава композиции аромата с помощью хромато-масс-спектрометра FOCUS DSQ-11 фирмы Финниган по сравнению с методом улавливания компонентов аромата с использованием угольного сорбента с дальнейшей идентификацией соединений на газовом хроматографе-масс-спектрометре HP-5973 D Agilent Technologies.

2. Внесение в питательный раствор к срезанным розам предшественников душистых веществ - бензойной, ацетилсалициловой и коричной кислот, фенилаланина, ацетата натрия - влияет на изменение компонентного состава смеси испускаемых цветками веществ:

- относительное содержание 3,5-диметокситолуола и 1,3,5-триметоксибензола значительно возросло во всех вариантах опыта относительно контрольного. Наибольшее содержание 3,5-диметокситолуола отмечено в смеси летучих органических соединений роз варианта с внесением в питательный раствор смеси фенилаланина и ацетата натрия, 1,3,5-триметоксибензола – в варианте с внесением бензойной кислоты;

- внесение фенилаланина, бензойной и коричной кислот способствует биосинтезу ароматических соединений роз в соответствии с теоретическими основами биосинтеза по шикиматному пути;

- внесение ацетата натрия и ацетилсалициловой кислоты увеличивает содержание сесквитерпеновых углеводов в композиции летучих органических веществ роз в соответствии с ацетатно-мевалонатным путем биосинтеза.

3. Выявить четкие закономерности в изменении состава смеси летучих органических соединений роз в зависимости от исследованных концентраций предшественников (1 и 2 мг/мл) не удалось.

4. Количество компонентов композиции пахучих веществ роз с течением времени значительно уменьшается только на третьи сутки в контрольном варианте. Содержание 3,5-ДМТ снижается, 1,3,5-ТМБ возрастает. Лучший результат по сохранению структуры смеси летучих органических веществ роз с течением времени по сравнению с питательным раствором без добавок получен в вариантах с внесением ацетилсалициловой (1 и 2 мг/мл) и бензойной кислот (1 мг/мл). Сохранению доли 3,5-ДМТ и 1,3,5-ТМБ в смеси ЛОС способствовало внесение в питательный раствор ацетилсалициловой кислоты в концентрации 2 мг/мл.

5. Выявить четкую зависимость между оценкой аромата роз и содержанием в смеси ЛОС 3,5-ДМТ, 1,3,5-ТМБ и гермакрина D не удалось. Был отмечен (органолептическим анализом)



характерный розоподобный аромат с «чайным» оттенком у роз вариантов опыта с наибольшим содержанием 3,5-диметокситолуола – при внесении смеси фенилаланина с ацетатом натрия, фенилаланина отдельно и бензойной кислоты.

6. Близкое суммарное содержание производных жирных кислот и ароматических соединений на фоне преобладания терпенов и терпеноидов в смеси цветочных летучих органических соединений обеспечивает наиболее приятный аромат (по результатам органолептического анализа) роз этих вариантов. При преобладании производных жирных кислот (около 50%) аромат оценивается как наименее приятный.

7. Проведенные исследования позволили установить влияние бензойной, коричной и ацетилсалициловой кислот, фенилаланина и ацетата натрия, внесенных в питательный раствор к срезанным розам, на композицию аромата. Полученные результаты свидетельствуют о перспективности проведения дальнейших исследований возможных пар «предшественник – компонент аромата» для управления синтезом и эмиссией цветочных летучих органических соединений, что позволит улучшить качество получаемой продукции и откроет новые возможности для использования декоративных культур в современных средоулучшающих технологиях.

#### **СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ**

1. Артюшина, И.Ю. Изменение компонентного состава смеси душистых веществ, выделяемых розой, в зависимости от состава питательного раствора / И.Ю. Артюшина, Н.В. Верховцева // Проблемы агрохимии и экологии. – 2013. - № 2. - С. 41 - 46.

2. Артюшина, И.Ю. Биохимические аспекты формирования и регулирования аромата современных сортов роз / И.Ю. Артюшина, Н.В. Верховцева // Проблемы агрохимии и экологии. – 2013. - № 3. - С. 55- 59.

3. Артюшина, И.Ю. Регулирование состава летучих органических соединений срезанных роз / И.Ю. Артюшина, Н.В. Верховцева // Апробация. – 2014. – № 2. - С. 10-13.

4. Артюшина, И.Ю. Увеличение количества летучих ароматических соединений (усиление запаха) у роз при выращивании в защищенном грунте и в срезке / И.Ю. Артюшина // Биология – наука XXI века : сб. материалов международной конференции. - М. :МАКС Пресс, 2012. - С. 65-66.

5. Артюшина, И.Ю. Изменение качественных и количественных характеристик аромата срезанных роз в зависимости от состава питательного раствора / И.Ю. Артюшина // Современные достижения науки – 2013 : сб. материалов IX международной научно-практической конференции. - Прага : Education and Science, 2013. - С. 3-6.

6. Артюшина, И.Ю. Компонентный состав аромата срезанных роз в зависимости от состава питательного раствора / И.Ю. Артюшина // Ломоносов – 2013 : секция биология : сб. материалов XIX международной научной конференции студентов, аспирантов и молодых ученых. - М. :МАКС Пресс, 2013. - С. 298.

7. Малышева, А.Г. Хромато-масс-спектрометрический анализ летучих выделений растений для оценки эффективности и химической безопасности средоулучшающих фитотехнологий / А.Г. Малышева, И.Ю. Артюшина, Н.В. Верховцева // Приоритеты профилактического здравоохранения в устойчивом развитии общества: состояние и пути решения проблем : сб. материалов пленума научного совета по экологии человека и гигиене окружающей среды РФ. – М. : МГУ, 2013. – С. 223-226.