

**МОСКОВСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ
имени М.В. ЛОМОНОСОВА
ФАКУЛЬТЕТ ПОЧВОВЕДЕНИЯ**

На правах рукописи

Артюшина Ирина Юрьевна

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

Специальность: 06.01.04 – агрохимия

**Диссертация
на соискание ученой степени
кандидата биологических наук**

Научный руководитель:
Доктор биологических наук, профессор
Надежда Владимировна Верховцева

Москва – 2015

Содержание	Стр.
Введение	3
Глава 1. Особенности формирования композиции аромата срезанных роз (обзор литературы)	9
1.1. История появления и основные характеристики культуры роз на срезку	9
1. 2. Аромат как продукт жизнедеятельности растения	12
1.3. Компонентный состав и биохимические основы формирования запаха роз	17
1.4. Физиологические и химические аспекты восприятия запахов	27
1.5. Методы анализа химического состава композиции аромата	30
1.6. Современные способы целенаправленного изменения аромата	41
Заключение по обзору литературы	42
Глава 2. Объекты и методы исследования	43
2.1. Объекты исследования	43
2.2. Состав питательного раствора. Схема опыта	44
2.3. Методы исследования	45
Глава 3. Изменение качественных и количественных характеристик аромата срезанных роз (экспериментальная часть)	50
3.1. Влияние предшественника, внесенного в питательный раствор, на состав смеси летучих органических соединений роз	50
3.2. Изменения смеси летучих органических соединений розы, связанные со временем экспозиции растений в питательном растворе ..	74
3.3. Влияние концентрации предшественника на состав смеси летучих органических соединений, выделяемых цветками роз	81
3.4. Органолептический анализ	87
Выводы	92
Список используемой литературы	94
Приложения	110

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность темы. Современные сорта роз на срезку часто не имеют своего специфического запаха. Это может быть обусловлено тем, что аромат, как таковой, не являлся целевой характеристикой для селекционеров. Основное внимание уделялось выведению стойких сортов, отличающихся формой, размером и окраской бутона, длиной стебля и другими морфометрическими показателями (Dudareva, 2000; Brown, 2002; Biology of Floral Scent, 2006). Еще одной причиной потери аромата могла стать непреднамеренная селекция в направлении уменьшения синтеза пахучих компонентов, например, из-за отрицательной корреляции между их содержанием в растении и длительностью жизни цветка после срезки. Так, установлено, что распространенные составляющие композиции цветочного аромата*¹ – жасминовая кислота и метилжасмонат – способствуют физиологическому старению цветка, так как участвуют в синтезе этилена – гормона созревания (Porat, 1993).

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 (Zuker, 1998; Kaiser, 2004; De Preville, 2006; Lewinsohn, 2009; Negre-Zakharov, 2009). Летучие органические соединения, обуславливающие аромат растений, в том числе обладают биологической активностью, включая фитонцидную, антисептическую, антиспазматическую, тонизирующую, антиоксидантную, антиканцерогенную и другие (Виноградов, 2006; Ткачев, 2008), целенаправленно используемые 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).

¹ * Под термином «композиция аромата» здесь и далее понимается смесь летучих органических соединений, выделяемая растением в окружающую среду.

Но, 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 недостатков, 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).

Таким образом, идея заключается в создании метода, направленного на изменение аромата уже существующих сортов роз и отличающегося небольшим количеством времени с момента начала эксперимента до регистрации результата (качественные и количественные характеристики композиции аромата).

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 к продаже 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.

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.

Место выполнения работы. Исследования проводили на базе кафедры агрохимии и биохимии растений факультета почвоведения Московского государственного университета имени М.В. Ломоносова и Ульяновского совхоза декоративного садоводства (филиал ГУП «Мосзеленхоз»).

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. Выявлено, что сохранению структуры (соотношение основных компонентов) смеси летучих органических веществ роз с течением времени

способствует внесение в питательный раствор ацетилсалициловой (1 и 2 мг/мл) и бензойной кислот (1 мг/мл); сохранению доли 3,5-диметокситолуола и 1,3,5-триметоксибензола в смеси летучих органических соединений способствовало внесение в питательный раствор ацетилсалициловой кислоты в концентрации 2 мг/мл. 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.

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 композиции 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 углеводородов 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).

Публикации. По теме диссертации опубликовано 7 печатных работ, в том числе 2 в изданиях, рекомендованных ВАК РФ.

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.

ГЛАВА 1. ОСОБЕННОСТИ ФОРМИРОВАНИЯ КОМПОЗИЦИИ АРОМАТА СРЕЗАННЫХ РОЗ (ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ)

1.1. История появления и основные характеристики культуры роз на срезку

К настоящему времени известно более чем 150 видов и 25000 сортов роз. Наиболее популярный класс современных роз – чайно-гибридные, насчитывающий примерно 10000 зарегистрированных сортов (Krüssmann, 1982; Cairns, 2003). Чайно-гибридные розы обычно имеют один, реже несколько, крупных бутонов и являются основным классом, используемым для производства цветов на срезку. Следующие по популярности классы современных роз – флорибунда, который насчитывает более 4500 зарегистрированных сортов, и миниатюрные розы – более чем 3000 сортов (Folta, 2009). Такое разнообразие стало возможным после скрещивания китайской и европейской разновидностей роз в конце 19 века (1867 год), в результате которого была получена группа чайно-гибридных роз (Shepherd, 1954; Wylie, 1954; Guoliang, 2003; Julien, 2004).

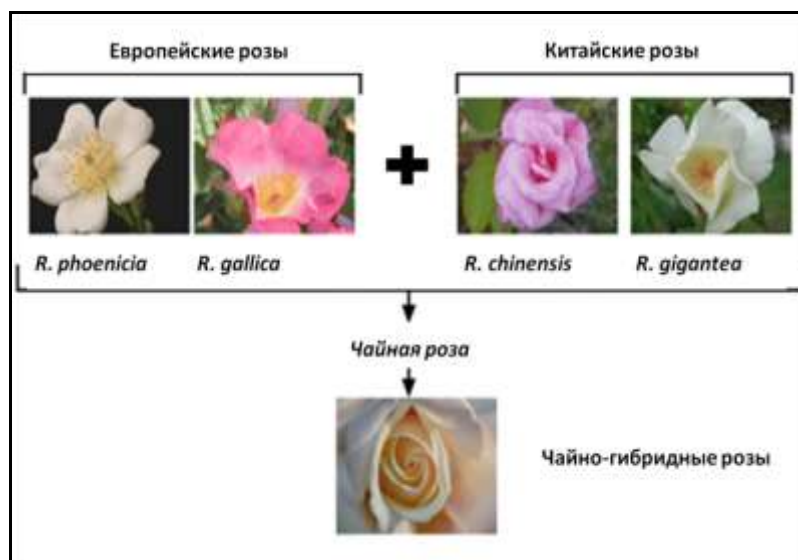


Рисунок 1. Происхождение чайно-гибридных сортов роз (Scalliet, 2008)

Широкое распространение роз на срезку началось незадолго до 1900 г, когда были введены в использование первые специализированные теплицы. В настоящее время розы на срезку, как правило, выращиваются в теплицах с

контролируемым климатом, где растения могут цвести круглый год после непродолжительных периодов роста, зависящих от внешних условий: света, тепла, полива, удобрения и уровня углекислого газа (Olson, 1998; Folta, 2009). Площади, занятые культурой роз на срезку занимают по всему миру около 8500 га, производя ежегодно 15-18 миллиардов стеблей (Blom, 2003). Роза - одна из наиболее продаваемых декоративных культур во всем мире. В наиболее развитых странах уровень продаж декоративных культур достигает таковой для овощей и фруктов (Debener, 2009). Цветы на срезку составляют около одной трети от общего объема продаж садовых растений. Глобальная индустрия цветов на срезку превышает 27 миллиардов долларов (Chandler, 2007). Около 31% от объема продаж срезанных цветов на европейском рынке составляют розы с общей ценностью около 858 миллионов евро (Debener, 2009). Поэтому не удивительно, что роза является одной из наиболее важных декоративных культур для проведения селекции с целью улучшить востребованные на рынке характеристики, а именно - цвет, размер и форма цветка, количество и форма листьев, длина и прочность стебля, наличие шипов (Derks, 1995; Chaanin, 2003).

Наиболее популярный цвет бутона – красный (более 30% рынка). Другие классические цвета – желтый, розовый и белый. Такие цвета как оранжевый, коричневый, зеленый – могут быть востребованными в определенные годы, однако маловероятно, что смогут занять большую часть рынка. Устойчивость к болезням (Dixon, 2001; Muller, 2001) и высокая продуктивность даже при низкой освещенности и температуре являются другими желательными характеристиками для сортов роз, используемых в производстве. Адаптация к климатическим условиям выращивания приобретает большое значение для культур роз на срезку по мере расширения зон выращивания, особенно в Южной Америке и Африке, т.к. естественная среда произрастания роз – северное полушарие с умеренным климатом (Debener, 2009; Folta, 2009).

Еще одна неотъемлемая характеристика, четко ассоциирующаяся у потребителя с конкретным цветком, - это аромат. Однако, как было отмечено выше, большинство современных сортов роз на срезку характеризуются слабым,

невыразительным ароматом, либо его отсутствием. Как показал анализ литературных источников, основной причиной потери аромата считается исключение его из программ селекции, где на первом месте традиционно были окраска, форма и размер бутона, длина стебля, наличие или отсутствие шипов. А с увеличением масштабов торговли до мирового уровня выделились такие показатели как устойчивость к транспортировке, к болезням, длительная жизнь после срезки и т.п. (Barletta, 1995; Zuker, 1998; Davies, 2000; Dudareva, 2000; Dixon, 2005; Tanaka, 2005). Другая возможная причина потери аромата, рассмотренная выше, - непреднамеренная селекция в направлении уменьшения синтеза пахучих компонентов из-за отрицательной корреляции с другими целевыми характеристиками.

Как следствие, современные сорта роз на срезку (кроме парфюмных, селекция которых велась с акцентом на аромат) часто не имеют своего специфического запаха. Тем не менее, спрос на розы с характерным ароматом существует, что объясняет необходимость проведения исследований по изучению процессов синтеза и эмиссии душистых веществ в декоративных культурах и способов их регулирования (Zuker, 1998; Risch, 2000; Negre-Zakharov, 2009).

Аромату роз селекционеры стали уделять особое внимание лишь недавно (Folta, 2009), и, по мнению David C. Zlesak (2007), в перспективе будет наблюдаться растущая потребность в розах-спрэй, которые содержат многочисленные бутоны на одном стебле и обладают ароматом. Кроме того селекция для увеличения стойкости растения после срезки, продуктивности и устойчивости к болезням будет по-прежнему важным фактором для всех селекционеров роз на срезку (Halevy, 1986; Zlesak, 2007).

1. 2. Аромат как продукт жизнедеятельности растения

В настоящее время известно, что аромат роз обусловлен выработкой ими летучих органических соединений (ЛОС) – вторичных метаболитов, которые выделяются растениями в окружающую среду, или могут быть извлечены из растительных тканей различными методами экстракции (Ткачев, 2008; Baldwin, 2010; Кретович, 1986).

Под летучестью здесь понимается способность вещества в значительном количестве без разрушения молекул переходить в газовую фазу в условиях проведения экспериментов (комнатные условия). Подобное определение не является точным с точки зрения химической термодинамики, где под летучестью (фугитивностью) понимается функция температуры, давления и концентрации других компонентов смеси, используемая при записи значений химического потенциала веществ, имеющих измеримое давление пара (Ткачев, 2008), но отражает практическую пользу при проведении хромато-масс-спектрометрических исследований. С этой точки зрения, все вещества, пригодные для газохроматографического анализа делят на следующие категории в зависимости от молекулярного веса: 1) газы (чрезвычайно летучие вещества, *англ.*: permanent gases), 2) летучие вещества (молекулярная масса до ~ 200 D, *англ.*: volatile compounds), 3) труднолетучие вещества (молекулярная масса > 200 D, *англ.*: semi-volatile compounds) (Marriott, 2001). Этой классификации мы будем придерживаться в дальнейшем, говоря о летучих соединениях растений.

1.2.1. Роль вторичных метаболитов в жизни растения

Вторичные метаболиты растений представляют большую группу низкомолекулярных (примерно 100-250 D) летучих органических молекул разных классов, образующихся из первичных метаболитов. Считается, что вторичные метаболиты не принимают непосредственного участия в процессах нормального роста, развития и размножения растений, т.е. не являются жизненно необходимыми. Тем не менее, вторичные метаболиты не обязательно

представляют конечные продукты, и некоторые из них, особенно содержащие азот, могут далее использоваться в метаболизме растения (Даффус, 1987; Красильникова, 2004; Физиология растений, 2005). Кроме того, многочисленными исследованиями было установлено, что вторичные метаболиты, в частности летучие органические вещества, выделяемые в атмосферу, выполняют важные функции в жизни растений (Rao, 2002; Wink, 2010). Одна из основных функций вторичных метаболитов – защитная (Kessler, 2001; Хелдт, 2011). В частности, многие активные вещества вторичного происхождения принимают непосредственное участие в защите растения от хищников, фитофагов, паразитов, болезней, УФ лучей (фитопротекторные свойства) (Валиева, 2010). Другая немаловажная функция – сигнальная, имеющая существенное значение в отношениях растение-растение (аллелопатия), растение-микроб (синтез растением соединений – субстратов для «полезных» в фитожиизнедеятельности микроорганизмов), а также для привлечения опылителей или распространяющих семена животных (Wright, 1947; Harborne, 2001; Schwab, 2008; Maffei, 2010; Garzón, 2011). Многие вторичные метаболиты являются регуляторами роста и развития растений, проявляя при этом как стимулирующее, так и ингибирующее действие (Валиева, 2010).

1.2.2. Локализация вторичных метаболитов в растении

Характерной чертой вторичных метаболитов растений является способность накапливаться в достаточно высоких концентрациях, иногда не в тех органах, где они были синтезированы. Так как многие вторичные метаболиты обладают высокой биологической активностью, запасание этих веществ происходит в специальных, как правило, внеклеточных, структурах, чтобы избежать токсического воздействия на само растение (Schwab, 2008). Кроме того, многие пахучие вещества запасаются внутри растения в виде гликозидных форм (комплекс компонентов фитоэссенций с углеводами), сесквитерпеновых лактонов или каротиноидов и могут быть впоследствии гидролизованы (Виноградов, 2006). Так, например, 2-фенилэтил-β-D-гликозид запасается внутри лепестков роз и

может выступать основным источником такого летучего соединения, как 2-фенилэтанол (Baldermann, 2009). Душистые вещества могут находиться в протоплазме или клеточном соке, могут накапливаться в идиобластах, либо концентрироваться в специальных структурах, называемых вместилищами эфирных масел. Эти структуры делят на экзогенные, расположенные в наружных тканях, пространственно связанных с эпидермисом, и эндогенные. К первым относят железистые пятна, волоски и чешуйки, ко вторым – железистые клетки и вместилища железистых выделений (Балковая, 1958; Технология натуральных эфирных масел, 1984; Танасиенко, 1985).

Эфирное масло распределяется по органам растения неравномерно. Чаще всего оно сосредотачивается в каком-нибудь одном органе (листьях, цветках, корнях, плодах). По этому признаку сырье классифицируют на зерновое (плоды, семена), травянистое (листья, надземная часть травянистых растений, молодые побеги и ветви древесных растений), цветочное (цветки, цветочные бутоны, соцветия) и корневое (корни и корневища) (Технология натуральных эфирных масел, 1984; Самылина, 2007).

Компоненты эфирных масел в растениях находятся в свободном и связанном состояниях. Под связанным состоянием понимают гликозиды, биогенетически соответствующие тем или иным веществам, лактоструктуры и пирофосфатные интермедиаты вторичного метаболизма. Такие формы соединений позволяют растениям сохранять значительное количество летучих веществ на протяжении всего цикла их развития. При этом связанные компоненты не имеют строго ограниченной локализации и обычно равномерно распределяются по тканям промышленно используемой части растений. Теоретически это можно представить, как своеобразный запас таких веществ для стабильного протекания биологических процессов в растении (Самылина, 2007). Если пахучие компоненты находятся в связанном состоянии, то растение не обладает характерным для его эфирного масла запахом (Технология натуральных эфирных масел, 1984). Свободные компоненты - это вещества, содержащиеся в растениях в том виде, в котором они присутствуют в эфирном масле после его

извлечения из сырья (Изменение состава эфирного масла..., 2002). Свободные компоненты легко улетучиваются и обеспечивают характерный аромат душистых растений (Малиновский, 2004).

1.2.3. Источник аромата роз. Процесс эмиссии

Эмиссия душистых веществ может осуществляться непосредственно из тех частей растения, где они были синтезированы, либо из перечисленных выше мест скопления (Vainstein, 2001; Niinemets, 2004; Baldwin, 2006). При этом, точно ответить на вопрос, из какой именно части растения различные вещества испускаются, сложно. Дело в том, что обнаружение отдельных компонентов внутри растения не является доказательством того, что они выделяются во внешнюю среду непосредственно из этих органов (Dudareva, 2000). Хотя все органы растения могут выделять пахучие вещества, главным источником аромата большинства растений, в том числе роз, являются лепестки (Pichersky, 1994; Guterman, 2002; Picone, 2004). Душистые вещества выделяются из железистых структур на нижней поверхности лепестка. Скорость и объем эмиссии зависит не только от летучести молекул, но и от условий внешней среды – температуры (Dudareva, 2000), уровня освещенности (Baldermann, 2009; Schuurink, 2006; Helsper, 1998; Picon, 2004), относительной влажности воздуха (Jacobsen, 1994).

Источником аромата может быть не только само растение или его часть в неизменном виде, но и различные субстанции, получаемые из растительного материала – самые разнообразные эссенции, душистые смолы, мази, помады и, получившие наибольшую известность, эфирные масла. Это - смеси душистых веществ, относящихся к различным классам органических соединений, преимущественно к терпеноидам, реже ароматическим или алифатическим соединениям (Государственная Фармакопея СССР, 1987), и обуславливающие приятных запах растений. С учетом возможности улавливания предлагалось и такое определение эфирных масел - «содержащиеся в растениях смеси пахучих веществ, достаточно летучих, чтобы перегоняться с водяным паром и испаряться на воздухе» (Войткевич, 1999).

1.2.4. Эфирное масло розы. Свойства эфирных масел

Большая часть известных эфирных масел и их компонентов обладают высокой биологической активностью – бактерицидным, антисептическим, противовоспалительным, антиоксидантным, противоопухолевым действием (Carnesecchi, 2001; Стикс, 2002; Jaime, 2004; Goff, 2006; Koroch, 2007; Safaei-Ghomi, 2009), повышают сопротивляемость организма, положительно воздействуют на нервную систему, благотворно влияют на эмоциональное и психическое здоровье человека и прочее. Все это обуславливает их широкое использование в фитоэргономике – новом направлении науки, объединяющем различные знания по использованию растений для поддержания и восстановления работоспособности человека, в частности ароматерапии (Основы органической химии душистых веществ..., 2006; Ткачев, 2008; Жученко, 2009). С тех пор, как люди научились выделять душистые вещества из растений (более 7000 лет назад) (Кудряшова, 2010), наиболее ценным сырьем для получения эфирных масел считаются лепестки роз. Установлено, что для производства 500 г абсолюта розы необходимо около 500 кг лепестков (Hatterschide, 1995). Количество и качество получаемого масла зависит от сорта розы (Schulz, 2003), стадии раскрытия цветка (Verma, 2011), условий выращивания и условий технологического процесса экстракции (Baydar, 2005; Mostafavi, 2009). В настоящее время наиболее популярные сорта для производства розового масла – это *Rosa damascene* (Болгария, Турция), *R. centifolia* (Марокко, юг Франции) (Joichi, 2005). Некоторые местные производства, например, в Турции, Болгарии и России основаны на меньшей продуктивности, но более устойчивых сортах *R. alba* и, реже, *R. moschata*, *R. rugosa* и *R. bourboniana* (Folta, 2009). Основные компоненты эфирного масла розы в разных сочетаниях образуют около 30 различных запахов, основными из которых являются розовый, фиалковый, ирисовый, настурциевый, клеверовый, яблочный, лимонный (Кудряшова, 2010).

1.3. Компонентный состав и биохимические основы формирования запаха роз

Развитие метода газовой хроматографии в 1960-х годах позволило точнее исследовать состав и пахучие компоненты эфирных масел (Schilling, 2010). В настоящее время идентифицировано более 400 различных соединений, входящих в состав летучих душистых соединений роз (Flament, 1993; Baldermann, 2009).

1.3.1. Классификация компонентов аромата

Вещества, составляющие композицию аромата, принадлежат разным химическим классам веществ и синтезируются в растении разными биохимическими путями. Исходя из этих положений, можно выделить несколько широко используемых классификаций летучих органических соединений роз (Baldermann, 2009).

В основу первой классификации положен принцип разделения по функциональным группам (химическому строению) молекул – углеводороды (главным образом сесквитерпены), альдегиды (бензальдегид, гексаналь и др.), кетоны (бутилциклогексанон, ионон и др.), спирты (преимущественно производные терпенов – гераниол, нерол, цитронеллол и др.), простые эфиры (в основном ацетаты – гексил ацетат, геранил ацетат и ароматические эфиры - 3,5-диметокситолуол, метилэвгенол), сложные эфиры (метилбензоат, фенилэтилбензоат и др.), кислоты (бензойная, салициловая и др.) (Flament, 1993; Antonelli, 1997; Lavid, 2002; Caissard, 2005).

В основу второй классификации положен принцип разделения по биохимическому пути синтеза тех или иных компонентов, иначе говоря, их биогенетическому происхождению (Biology of Floral Scent, 2006). Несмотря на то, что количество различных летучих соединений цветочного аромата очень велико (Knudsen, 1993), синтезируются эти компоненты душистых веществ в растении через относительно небольшое число метаболических путей, которые обычно дублируются (рис. 2). Биосинтетические пути важнейших растительных ЛОС

прослежены до их предшественников из первичного метаболизма (Croteau, 1991). Было показано, что углеводы, жирные кислоты и аминокислоты являются естественными предшественниками для душистых соединений (Schwab, 2008).

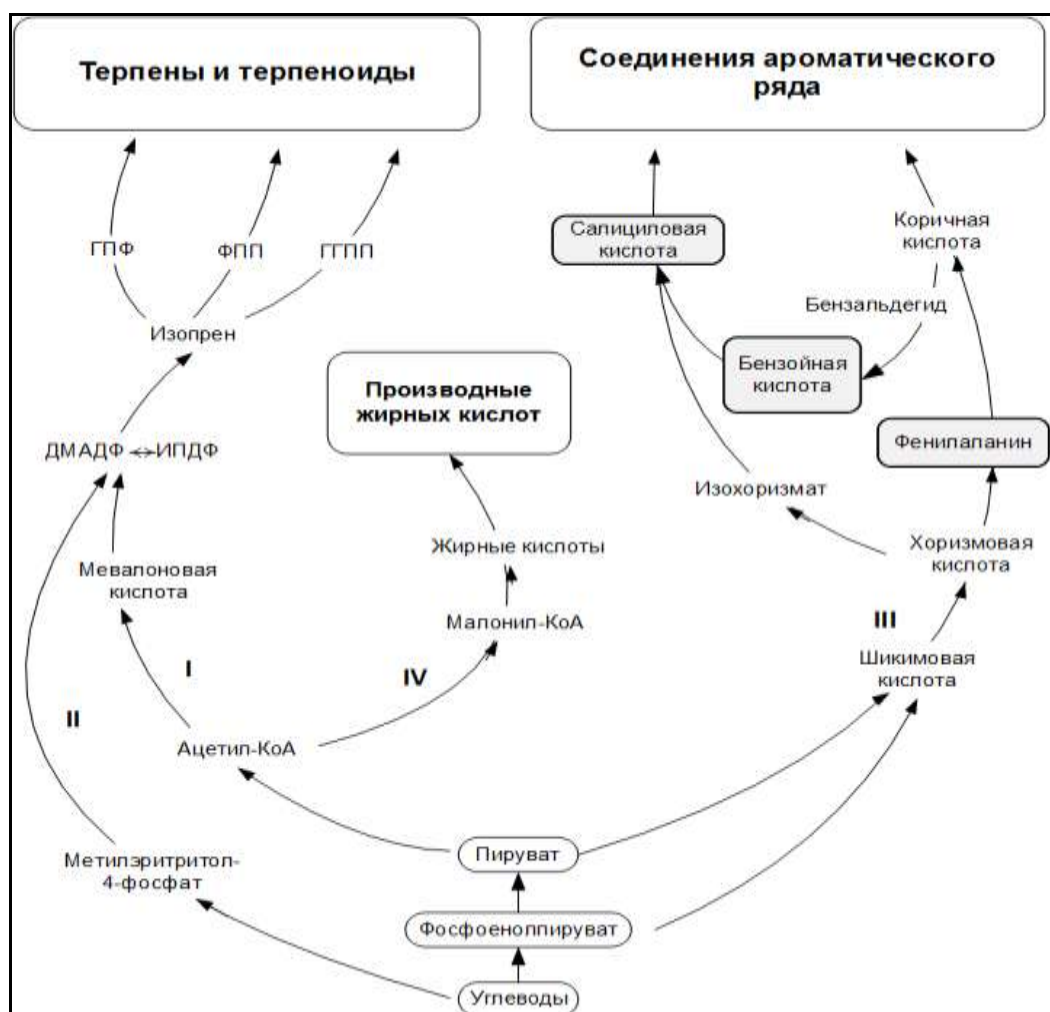


Рисунок 2. Основные пути синтеза душистых веществ в растении: I – мевалонатный путь синтеза изопрена, II – метилэритритол фосфатный («альтернативный») путь синтеза изопрена, III – шикиматный путь синтеза соединений с ароматическим кольцом, IV – синтез производных жирных кислот. ДМАДФ – диметилаллилдифосфат, ИПДФ – изопентилдифосфат, ГДФ – геранилдифосфат, ФДФ – фарнелилдифосфат, ГГДФ – геранилгеранилдифосфат (Артюшина, 2013, № 3)

Таким образом, можно выделить следующие классы веществ: терпены (моно-, сескви- и дитерпены) и терпеноиды (производные терпенов), ароматические соединения (фенилпропаноиды/бензеноиды), производные жирных кислот, которые, как правило, значительно модифицируются (окисляются, метилируются, этерифицируются и т.д.), производные аминокислот

(кроме фенилаланина), серосодержащие соединения (Knudsen, 1993; Croteau, 2000; Dudareva, 2000; Croteau, 2005; Knudsen, 2005; Pichersky, 2007; Baldwin, 2010). Каждое эфирное масло состоит из большого числа компонентов с преобладающим содержанием одного или нескольких из них в большем количестве. Эти компоненты считаются главными и определяют направление запаха и ценность эфирного масла (Каспаров, 1988). В эфирном масле розы смесь компонентов представлена в основном моно- и сесквитерпенами и их производными (Dudareva, 2000; Vainstein, 2001; Degenhardt, 2009; Tholl, 2009; Schilling, 2010), а также соединениями ароматического ряда. В рамках перечисленных классов веществ можно выделять подклассы по принципу функциональных групп, как было показано выше. Кроме того, душистые вещества можно классифицировать по запаху, по направлению использования и по источникам получения (Основы органической химии душистых веществ..., 2006).

Для более глубокого понимания механизма влияния предшественника на образование летучих органических соединений, составляющих ароматную смесь, которая испускается розой, рассмотрим основные пути синтеза этих соединений в растении.

1.3.2. Синтез терпенов и их производных

Основная структурная единица в синтезе терпенов и их производных – изопентенилдифосфат (ИПДФ) и его изомер диметилаллилдифосфат (ДМАДФ) – синтезируется в растении двумя способами. Первый протекает в цитозоле через мевалоновую кислоту, которая, в свою очередь, синтезируется из трех молекул ацетилкоэнзима А и пирувата (основной или «классический» путь). Второй протекает в пластидах через метилэритритол-4-фосфат («альтернативный» или «немевалонатный» путь синтеза) (Croteau, 1991; McGarvey, 1995; Croteau, 2000; Lange, 2000; Aharoni, 2005; Хелдт, 2011; Dudareva, 2013). Считается, что мевалонатный путь синтеза поставляет ИПДФ и ДМАДФ для синтеза сесквитерпенов, тогда как метилэритритолфосфатный – для синтеза моно- и

дитерпенов (Curry, 1987; Dudareva, 2004). С участием ферментов происходит конденсация ИПДФ и ДМАДФ с образованием геранилдифосфата, фарнезилдифосфата, геранилгеранилдифосфата – предшественников моно-, сескви- и дитерпенов, соответственно (рис. 2) (Bouvier, 2005; Baldermann, 2009). В ферментативных синтезах душистых терпенов алифатического и алициклического ряда из сахаров и производных жирных углеводов важную роль играет ацетил коэнзим А (Основы органической химии душистых веществ..., 2006). Последующие трансформации терпенов через гидроксилирование, окисление, ацилирование и другие реакции формируют огромное разнообразие летучих душистых производных – терпеноидов (Dudareva, 2004; Pichersky, 2006).

1.3.3. Синтез ароматических соединений

В настоящее время известно два пути синтеза соединений с ароматическим кольцом, представляющих вторичные метаболиты растений, - шикиматный и ацетатно-мевалонатный (Dudareva, 2000; Scalliet, 2002). Шикиматный путь синтеза считается основным. Фосфоенолпируват (высокоэнергетическое соединение гликолиза) является исходным соединением для синтеза шикимовой кислоты, с которой начинается непосредственно шикиматный путь синтеза. Большая часть фенилпропаноидов и бензеноидов, участвующих в композиции цветочного аромата, происходят из шикимовой кислоты через хориловую кислоту, L-фенилаланин и транс-коричную кислоту (Baldermann, 2009). Фенилаланин – основной предшественник синтеза фенилпропаноидов (группа ароматических соединений с боковой трехуглеродной цепочкой, C₆-C₃ соединения) и бензеноидов (Хелдт, 2011; Dudareva, 2013).

1.3.4. Синтез производных жирных кислот

Многие растительные фитоэссенции содержат органические кислоты в чистом виде – муравьиную, уксусную, пропионовую, изовалериановую, способные накапливаться в растительных тканях и иногда обуславливать их неприятный запах. Наиболее важной считается уксусная кислота, так как она

является предшественником жирных кислот, липидов и др. органических веществ растений (Виноградов, 2006). Насыщенные и ненасыщенные жирные кислоты, в свою очередь, служат предшественниками для многих растительных летучих соединений. Алифатические углеводороды, спирты, альдегиды, кетоны, кислоты, эфиры и лактоны – производные жирных кислот с прямой углеродной цепью – присутствуют в растительном царстве повсеместно, и формируются, в основном, путем α - и β -окисления и при участии ферментов липоксигеназ, гидропероксидаз, дегидрогеназ и изомераз из жирных кислот (Croteau, 1987; Croteau, 1991; Chappell, 2002; Croteau, 2002; Schwab, 2002). Большинство алифатических углеводородов содержит от 2 до 17 атомов углерода, включая распространенный класс C_6 -компонентов – летучих соединений зеленых листьев (*англ.* green-leaf volatiles) (Biology of Floral Scent, 2006). Короткоцепочечные спирты и альдегиды формируются путем метаболических преобразований или деградацией фосфолипидов и жирных кислот при непосредственном участии ацилкоэнзимов А (Vainstein, 2001; Flamini, 2007; Schwab, 2008). Расщепление, например, линолевой кислоты (18:2) по двойной связи между 12 и 13 атомами углерода приводит к образованию предшественника (C_{12}) жасминовой кислоты, а ферментативное окисление линолевой кислоты (18:3) приводит к образованию 3-гексеналя или гексаналя (Dudareva, 2004; Biology of Floral Scent, 2006; Baldermann, 2009). Эти короткоцепочечные альдегиды могут дальше преобразовываться в соответствующие спирты – 3-гексенол или гексанола, соответственно (D'Auria, 2002). Насыщенные и ненасыщенные летучие шести- и девятиуглеродные (C_6 и C_9) альдегиды и спирты вносят значительный вклад в характерный «свежий» аромат многих цветов и зеленых листьев. Спирты могут также образовываться из альдегидов, как промежуточных продуктов в цикле α -окисления распространенных жирных кислот (Hamberg, 1999). Тем не менее, спирты менее распространены в качестве душистых молекул из-за высокого порога восприятия в сравнении с соответствующими альдегидами. Образование душистых эфиров зависит от наличия ацилкоэнзимов-А. При участии специфических ферментов (Schwab, 2008) соединение различных спиртов и ацилкоэнзимов приводит к образованию

широкого ряда эфиров. Алифатические эфиры принимают участие в создании композиции аромата практически всех фруктов и цветов.

1.3.5. Характерный состав композиции аромата и факторы, влияющие на него

Исследованиями, проведенными группой ученых в Швейцарии с использованием метода улавливания летучих соединений вблизи живого цветка (*англ.* headspace analysis) для 27 разновидностей роз, было выявлено, что существует несколько типов характерных композиций аромата (Flament, 1993). За основу разделения была взята классификация летучих соединений по функциональным группам. В итоге, по преобладающему содержанию компонентов в композиции аромата были выделены следующие типы роз: углеводородный – преобладание в составе смеси летучих соединений углеводородов (*англ.* hydrocarbon type), спиртовой – преобладание спиртов (*англ.* alcohol type), эфирный (*англ.* ester type), эфирно-ароматический – преобладание ароматических эфиров (*англ.* aromatic ether type) (Flament, 1993).

Как было сказано выше, современные сорта произошли в результате скрещивания европейских и китайских разновидностей роз, которые обладали различными характеристиками аромата. Аромат Европейских роз определяется, главным образом, 2-фенилэтанолом и монотерпенами, тогда как основные компоненты запаха Китайских роз – 3,5-диметокситолуол и 1,3,5-триметоксибензол (Mookherjee, 1990; Filiberti, 2001; Lavid, 2002; Scalliet, 2002; Joyeux, 2003). Несмотря на то, что биосинтез фенольных эфиров изначально был ограничен Китайскими сортами роз, теперь 3,5-диметокситолуол – основной компонент аромата многих современных сортов роз (Brunke, 1992). Его легкий аромат с земляными и пряными нотками, напоминающими черный чай, совместно с другими молекулами отвечает за «чайный запах» Чайных и Чайно-гибридных роз, где 3,5-диметокситолуол может занимать до 90% от общего количества цветочных летучих компонентов (Joichi, 2005).

Характер многих запахов меняется в зависимости от концентрации (Райт, 1966). Например, высокое содержание индола имеет очень неприятный аромат, напоминающий фекальное вещество, но при высоком разбавлении, он воспринимается как цветочный и приятный (Калугина, 2007). Одни и те же летучие соединения могут присутствовать в цветах, запах которых воспринимается человеком как различный. Например, монотерпен гераниол, основной летучий компонент в цветках многих сортов роз, также выделяется характерно пахнущими цветами жасмина (Croteau, 1991). Более того, этот компонент входит в состав аромата более чем 250 различных видов растений (Knudsen, 1993).

Стоит отметить, что абсолютное содержание того или иного компонента в анализируемой композиции, не всегда отражает его вклад в формирование специфических свойств эфирных масел, в частности, аромата. Известно, что минорные компоненты, содержание которых выражается в десятых и сотых долях процента, могут играть важную роль в общем восприятии аромата человеком (Ткачев, 2008). Так, John C. Leffingwell приводит интересные данные, полученные при сравнении содержания летучих соединений в композиции аромата Болгарской розы с их вкладом в аромат цветка с учетом порога восприятия каждого отдельного вещества (Leffingwell, <http://www.leffingwell.com/rose.htm>). Примечательно, что в данном случае минорные компоненты играют наиболее заметную роль в итоговом восприятии аромата.

На состав эфирного масла растения влияют условия его выращивания, сроки сбора урожая, условия хранения сырья (Sood, 1992; Изменение состава эфирного масла..., 2002; Steenhuisen, 2010). Список веществ и их количественное содержание в смеси компонентов аромата одного и того же сорта роз, выращенных в одних и тех же условиях, может варьировать в зависимости от способа извлечения и метода их анализа (Bayrak, 1994; Войткевич, 1999; Изменение состава эфирного масла..., 2002; Joichi, 2005; Biology of Floral Scent, 2006; Mostafavi, 2009; Shamspur, 2010), что следует принимать во внимание при интерпретации результатов. Ниже приведена таблица, наглядно показывающее

влияние вышеупомянутых факторов на содержание душистых веществ, выделяемых розами (на примере лишь нескольких из огромного числа подобных исследований).

Таблица 1.

Компонентный состав смесей душистых соединений роз разных сортов, извлеченных с использованием метода экстракции (extraction) и улавливания в свободном пространстве около цветка (headspace), литературный обзор

Метод		Extraction					Headspace
Автор		Safaei-Ghomi, 2009 (Iran)		Mostafavi, 2009 (Iran)	Verma, 2011 (India)	Joichi, 2005 (Japan)	
	Объект	Rose damascene Mill. (white)	Rose damascene Mill. (pink)	Rose damascene Mill.	Rose damascene Mill. ('Ranisahiba', 'Noorjahan', 'Kannouj')	Hibrid Tea Rose ('Lady Hillingdon', 'Diorama', 'Grand Mogul')	
	Компонент						
Терпены и терпеноиды	Лимонен	0,14	-	Tr.-0,1	Tr.-0,8	-	0,15-0,59
	Линалоол	1,38	-	0,1-0,7	0,7-2,8	0,02-0,58	0,95-1,25
	Терпинеол	0,22	-	0,1	-	0,11	-
	Цитронеллол	53,61	34,7	12,6-53,4	1,8-35,3	0,02-0,38	0,25
	Нерол	-	5,0	-	4,0-9,6	0,05-0,43	-
	Гераниол	12,59	-	3,8-22,7	3,3-30,2	0,83-1,54	2,18-8,32
	Кариофиллен	0,18	7,8	0,1-1,2	Tr.-1,6	0,11-0,58	1,49-3,48
	Гумулен	-	1,7	0,7-1,3	0,2-0,6	0,08-0,09	0,3
	Гермакрен D	-	0,4	1,6-4,0	-	-	8,06
	α -Пинен	-	-	0,2-3,1	Tr.-2,8	-	-
	β -Пинен	-	-	0,1-0,7	Tr.-0,6	-	-
	Камфен	-	-	0,1	-	-	-
	Оцимен	-	-	Tr.-0,1	Tr.-0,9	-	-
	Копаен	-	-	Tr.	-	-	-
	Бурбонен	-	-	0,3	-	-	-
	Элемен	-	-	0,2-0,6	-	-	-
	Кубебен	-	-	0,1	-	-	-
	Дигидро β -ионон	-	-	-	-	0,33-2,09	0,42
	β -Ионон	-	-	-	-	0,41-0,60	2,35-5,65

Таблица 1. (продолжение)

Метод		Extraction					Headspace
Автор		Safaei-Ghomi, 2009 (Iran)		Mostafavi, 2009 (Iran)	Verma, 2011 (India)	Joichi, 2005 (Japan)	
	Объект	<i>Rose damascene</i> Mill. (white)		<i>Rose damascene</i> Mill.	<i>Rose damascene</i> Mill. (‘Ranisahiba’, ‘Noorjahan’, ‘Kannouj’)	<i>Hibrid Tea Rose</i> (‘Lady Hillingdon’, ‘Diorama’, ‘Grand Mogul’)	
	Компонент						
Производные жирных кислот	Трикозан	1,32	4,3	-	0,6-1,9	-	-
	2-Бутанол	-	-	-	-	0,05-0,09	-
	Гексанол	-	-	Tr. – 0,1	-	0,27-1,28	-
	Гексаналь	-	-	-	-	0,01-0,02	-
	Деканаль	-	-	Tr.-0,1	Tr.	-	-
Ароматические соединения	Бензиловый спирт	-	-	Tr.-0,1	-	0,06-3,22	-
	Этилбензоат	-	-	0,1	-	-	-
	Фенилэтилбензоат	-	0,4	-	-	-	-
	Бензальдегид	-	-	-	-	-	0,28
	Ацетофенон	-	-	-	-	-	0,07
	1,3-Диметокси-5-метилбензол	-	-	-	-	2,1-39,6	26,1-73,0
	1,3,5-ТМБ	-	-	-	-	0,07-0,56	-
	2-Фенилэтанол				66,2-80,7	0,07-0,15	-
	Метилэвгенол	0,23	0,2	0,1-1,9	1,3-3,4	0,04-0,65	0,34
	Эвгенол	-	-	0,2-1,8	0,8-9	0,61-1,72	0,06-0,36

«Tr.»- следы (менее 0,1%), «-» - нет данных.

Кроме того, были отмечены различия в составе смеси летучих органических соединений «живых» и срезанных цветов (Flament, 1993). Так, в экспериментах с желтой чайно-гибридной розой было показано, что содержание 3-гексенилацетата в смеси ЛОС срезанных цветков снизилось с 20 до 5%, а 3,5-диметокситолуола выросло с 10 до 18,6% по сравнению с цветками, оставшимися на стебле. В то же время, содержание другого важного компонента аромата роз - 2-фенилэтанола и его ацетата в вариантах со срезанными цветками снизилось (Mookherjee, 1990).

Смесь душистых веществ эфирных масел, как правило, отличается от смеси веществ, испускаемых непосредственно цветком. Пахучие вещества в растении могут находиться в свободном и связанном состоянии – в виде гликозидных форм (см. выше). В последнем случае высвобождение пахучих веществ возможно только после гидролиза или ферментативного расщепления гликозидов. Роза как эфиромасличное сырье относится к группе растений, в которых пахучие вещества находятся как в связанном, так и в свободном состоянии (Технология натуральных эфирных масел, 1984). При извлечении эфирного масла часть компонентов может модифицироваться, часть может теряться и не переходить в масла, и, наоборот, может извлекаться та часть компонентов, которая в обычных условиях не является летучей. Таким образом, состав смеси ЛОС розы зависит от применяемого метода их извлечения из растения. Описание применяемых методов экстракции см. в разделе 1. 5.

1. 4. Физиологические и химические аспекты восприятия запахов

С конца 19 века предложено около 50 теорий для объяснения природы запаха, его зависимости от свойств молекулы пахучего вещества и для классификации всех известных ароматов – стереохимическая теория Дж. Эймура, волновая теория Р. Райта, теория функциональных групп М. Беетса и другие (Fragrance Chemistry, 1982; Хейфиц, 1994). Согласно современным представлениям, восприятие аромата человеком осуществляется посредством воздействия летучих молекул на специальные рецепторы в обонятельном эпителии, расположенном в носовой полости. Запах – ощущение, которое возникает при воздействии частиц пахучего вещества на обонятельные рецепторы слизистой оболочки носа (Каспаров, 1988). Как и другие рефлекторные раздражения, разные запахи могут влиять на деятельность центральной нервной системы, органов дыхания, пищеварения и др., воздействовать на настроение и чувства (Stockhorst, 2004).

При этом вещество должно обладать определенными свойствами, чтобы обеспечить сенсорные свойства: некоторую растворимость в воде, достаточно высокое давление пара, низкую полярность, липофильность и поверхностную активность. К настоящему времени не известно пахучих веществ с молекулярной массой более 294 дальтон (Leffingwell, 2002). При помощи обоняния человек может различать множество летучих соединений даже при очень низких концентрациях (Ohloff, 1994). Среднестатистический человек способен различать около 4000 запахов, тогда как человек с обостренным обонянием – порядка 10000 (Райт, 1966; Основы органической химии душистых веществ..., 2006). Влияние одной молекулы запаха на рецептор вызывает множество биохимических реакций внутри нейрона, усиливая его чувствительность к запаховому сигналу. Полученный сигнал передается в мозг, формируя специфический ответ организма. Образ запаха создается в зависимости от уровня и частоты нервных импульсов (Основы органической химии душистых веществ..., 2006). Сила воздействия зависит от порога восприятия – наименьшей концентрации пахучего

вещества в воздухе (граммы, моли или число молекул на единицу объема), вызывающей ощущение запаха (Райт, 1966; Каспаров, 1988), для многих душистых веществ она лежит в пределах $10^{-8} - 10^{-11}$ г/л (Хейфиц, 1994). Для определения пороговой концентрации используются ольфактометры – специальные приборы, позволяющие более-менее точно определять концентрацию пахучего вещества (Каспаров, 1988). Порог восприятия зависит от летучести молекулы, и для некоторых он необычайно низок. Порог восприятия разных веществ может отличаться в тысячи раз. Это свидетельствует о том, что только количественное содержание компонента в смеси не может однозначно характеризовать его вклад в восприятие аромата.

О связи между запахом органических соединений и их строением (тип, число и положение функциональных групп, разветвленность, наличие кратных связей, изомерия) собран значительный экспериментальный материал, однако недостаточный для предсказания запаха новых соединений. Тем не менее, для отдельных групп соединений можно установить некоторые закономерности влияния особенностей их строения на запах. Накопление в одной молекуле нескольких функциональных групп приводит к ослаблению или полному исчезновению запаха. Альдегиды изостроения обладают, как правило, более сильным и приятным запахом, чем изомеры нормального строения. Запах макроциклических кетонов завит от количества атомов углерода в молекуле: кетоны $C_{10}-C_{12}$ имеют камфорный запах, C_{13} – кедровый, $C_{14}-C_{18}$ – мускусный, при дальнейшем увеличении числа атомов углерода запах постепенно исчезает. Алифатические соединения с числом атомов углерода более 17-18 также лишены запаха (Братус, 1992; Хейфиц, 1994). Фруктовый запах характерен для эфиров низших жирных кислот и насыщенных жирных спиртов (например, изоамилацетат), цветочный – для эфиров алифатических кислот и терпеновых, или ароматических, спиртов (например, бензилацетат, линалилацетат, терпенилацетат), сладкий бальзамический аромат – для эфиров бензойной, салициловой и других ароматических кислот (Хейфиц, 1994; Frater, 1998; Burdock, 2010).

Однако стоит иметь в виду, что сходство структур молекул душистых веществ не всегда означает сходство их запахов. Кроме того, на запах сильно влияет явление изомерии (например, *цис*- и *транс*изомеры могут очень сильно отличаться по запаху) – изованелин, в отличие от ванилина, не пахнет (Основы органической химии душистых веществ..., 2006).

Первая попытка классифицировать запахи была предпринята Аристотелем в IV в. до н.э. Он выделил шесть основных: сладкие, кислые, острые, терпкие, сочные и зловонные. Спустя примерно 2 тысячи лет стехиометрическая теория выделяла семь первичных (базовых) запахов: эфирный, камфарный, мускусный, цветочный, мятный, острый и гнилостный. Все остальные запахи рассматривались как продукты смешения элементарных запахов. В 1916 году была предложена классификационная система запахов в виде пятигранной призмы: в вершинах располагались базовые запахи, а на гранях, ребрах и внутри призмы – запахи, производные из двух, трех, четырех и шести основных. В парфюмерии существует своя классификация запахов, например, классификация французского парфюмерного комитета 1999 года:

1. Цитрусовые (пять подгрупп)
2. Цветочные (девять подгрупп)
3. Фужерные или папоротниковые (пять подгрупп)
4. Шипровые (семь подгрупп)
5. Древесные (восемь подгрупп)
6. Амбровые (шесть подгрупп)
7. Кожаные (три подгруппы) (Основы органической химии душистых веществ ..., 2006).

1. 5. Методы анализа химического состава композиции аромата

Химический анализ летучих органических соединений (ЛОС) включает в себя несколько ключевых этапов: 1) выделение/сбор летучих компонентов, 2) разделение смеси на отдельные компоненты, 3) идентификация компонентов (Knudsen, 1993). Результаты качественного и количественного анализа смеси компонентов аромата можно дополнить результатами органолептического анализа, оценивающего приятность и силу аромата. На каждом из этапов возможно применение различных решений, в зависимости от целей анализа и природы материала.

Исходя из обзора описанных в литературе методов исследования компонентов ароматов, можно выделить два основных подхода к анализу запаха роз, отличающихся по способу отбора образцов/ характером/природой анализируемого материала и информативности получаемых показателей.

Первый подход основан на извлечении веществ из растительного материала в виде характерной субстанции, как правило, – эфирных масел. Лабораторные методы извлечения могут представлять собой уменьшенные копии промышленных процессов или быть специально разработанными для исследовательских целей и задач. Рассмотрим наиболее используемые физико-химические методы извлечения целевых компонентов.

1.5.1. Дистилляция (перегонка с паром)

Наиболее распространенный метод извлечения большинства эфирных масел (Ефремов, 2013).

Дистилляция – перегонка, испарение жидкости с последующим охлаждением и конденсацией пара. Перегонка с водяным паром используется чаще всего тогда, когда эфирного масла в растении содержится достаточно много. Кроме того, в некоторых случаях только этот способ позволяет получить эфирные масла определенного качества, например, содержащие азулены (ромашка, тысячелистник). Дело в том, что в связанной (нелетучей форме) в растении

содержатся вещества, относящиеся к классу сесквитерпеновых лактонов. При распаде этих лактонов в результате гидролиза водяным паром образуется важный класс компонентов эфирных масел — азулены (Виноградов, 2006). Эти вещества окрашивают эфирные масла в глубокий синий и зеленый цвет и придают им особые физиологически активные свойства (противовоспалительное, противоожоговое). Иногда выделяют водяную перегонку (гидродистилляция), водно-паровую (гидропародистилляция) и паровую (пародистилляция) (Войткевич, 1999; Ефремов, 2013).

Простейший вариант заключается в отгонке воды в присутствии растительного материала. Растительный материал помещают в горячую воду или нагревают на пару. При воздействии высоких температур из него выделяются летучие фракции за счет разрушения вместилищ эфирных масел в растении. Смесь эфирного масла с водяным паром, поднимаясь по трубке через охлаждающий бак, конденсируется. Полученная жидкость легко разделяется на слои, так как, за редким исключением (например, масло гвоздики), плотность эфирных масел меньше плотности воды (Основы органической химии душистых веществ..., 2006). В промышленности применяется достаточно редко, например, при получении розового масла. Однако широко используется в лабораторных условиях. Метод гидродистилляции обладает целым рядом недостатков. Главный из них — низкая степень насыщения паровой фазы эфирным маслом, что обуславливает малую скорость извлечения масла, высокий расход пара и большое количество дистилляционных вод. Также характерны относительно большие потери масла с кубовым остатком (отработанное растительное сырье) и отработанными дистилляционными водами, химическое изменение компонентов масла, особенно сложных эфиров, благодаря длительному контакту при высокой температуре с кислотами, содержащимися в сырье (Каспаров, 1988; Ефремов, 2013). Например, может теряться 30-90% исходного количества линалилацетата за счет его гидролиза до линалоола и уксусной кислоты, что является причиной образования новых побочных продуктов - артефактов (Виноградов, 2006). Наиболее экономичный и технологически удобный способ отгонки заключается в

использовании перегретого пара (пара высокого давления). При этом удается избежать местных перегревов растительного материала, имеющих место при гидродистилляции, и отогнать труднолетучие, часто весьма ценные компоненты эфирного масла (Виноградов, 2006). После извлечения летучих компонентов эфирного масла паром, полученная смесь охлаждается и поступает в приемник. Устройство приемника зависит от плотности масла. Если масло легче воды, оно всплывает вверх, а вода удаляется через боковую трубку. Если масло тяжелее, то оно собирается на дне приемника, а избыток воды сливается через отверстие верхней части. Обе конструкции являются разновидностями так называемой флорентийской склянки. Полученное в процессе дистилляции с паром масло называется дистилляционным (Виноградов, 2006; Ткачев, 2008).

Некоторые эфирные масла частично растворимы в воде и при дистилляции с паром часть их уносится в растворенном виде с дистилляционными водами. Наибольшей растворимостью обладают масла, содержащие фенолы и терпеновые спирты, меньшей – эфиры, и практически нерастворимы терпеновые углеводороды. При одновременном содержании хорошо растворимых и мало растворимых компонентов происходит вымывание из получаемого эфирного масла фенолов и терпеновых спиртов (Виноградов, 2006). Метод перегонки с водяным паром дает хороший выход эфирных масел в достаточно чистом виде. Кроме того, дистилляционная вода, используемая в процессе экстракции несколько раз, насыщается водорастворимыми компонентами эфирных масел и используется в качестве туалетной воды, для ухода за кожей. Такую воду называют либо гидрозо́лем, либо «розовой водой» (если в качестве сырья использовали лепестки роз). Гидрозо́ль – водный раствор, получаемый в процессе фитоэкстракции, содержит водорастворимые компоненты растений и микрочастицы фитоэссенций. Кроме карбоновых кислот в гидрозоли входит большое количество терпеновых и сесквитерпеновых спиртов, что дает возможность использовать их в качестве средств ухода за кожей (роза, ромашка, зверобой, мирт). Гидрозоли также являются замечательным источником ценных спиртов, не оказывающих раздражающего действия, собственного терпеновым

углеводородам. Однако в гидрозолях легко происходят химические реакции трансформации, а также изменения, связанные с жизнедеятельностью микроорганизмов. Чтобы сохранить состав гидрозолей, в них добавляются консерванты (Виноградов, 2006).

Несмотря на кажущуюся простоту, метод требует тщательного подбора оптимальных условий для каждого вида растений, в частности, температуры, давления. Кроме того, он не подходит для термочувствительных соединений. Некоторые эфирные масла из цветков душистых растений, таких как акация, фиалка, жасмин, резеда, ладан, нарцисс, мимоза, гиацинт, гардения вообще невозможно получить перегонкой с паром. В этом случае применяют экстракционные методы (Махлаюк, 1992; Виноградов, 2006).

1.5.2. Экстракция органическими растворителями

Метод предполагает использование различных органических растворителей в процессе извлечения продуктов из растительного сырья. В качестве растворителей чаще всего применяют петролейный эфир, экстракционный бензин, толуол, бензол (Войткевич, 1999).

Процесс экстракции состоит из двух этапов: собственно извлечения компонентов из растительного сырья и удаления растворителя (часто при пониженном давлении). После освобождения от растворителя получается полужидкая или твердая масса темного цвета, которая называется «конкрет». В нем наряду с летучими ароматическими соединениями содержится очень много нелетучих компонентов (парафины, воск, эфиры высших жирных кислот и смолы). Содержание эфирного масла в конкрете 5-20%. Из конкрета эти эфирные масла чаще всего извлекают этиловым спиртом. Для этого конкрет растворяют в спирте. При этом в раствор переходит 20-60% конкрета. Нерастворившиеся вещества отфильтровывают при сильном охлаждении для отделения от восков, а спиртовой раствор обесцвечивают активированным углем и выпаривают в вакууме. При этом получают абсолютное масло («абсолю»), которое чрезвычайно ценится в парфюмерии. Если говорить более точно, то конкреты и абсолю не

являются истинными ("чистыми") эфирными маслами. Это скорее растворы эфирных масел в "собственных соках" растений, главным образом, растительных жирах, которые присутствуют в больших количествах в растительном материале для экстракции и которые легко извлекаются органическими растворителями наряду с эфирными маслами. Следует отметить, что состав экстрактивных эфирных масел (конкретов и абсолю) может сильно отличаться от состава дистилляционных эфирных масел, полученных из одного и того же растительного источника. Особенно это касается растительного сырья, где эфирные масла находятся в связанных формах. В этом случае в составе экстрактивного эфирного масла будут отсутствовать компоненты, получение которых требует присутствия пара или горячей воды. Например, в составе ромашкового конкрета будут отсутствовать хамазулен, образующийся только при паровой дистиляции ромашки, но будет входить матрицин - предшественник хамазулена, растворимый в органических растворителях. Если ромашковый конкрет обработать горячей водой, то в нем образуется хамазулен. С другой стороны, экстрактивные эфирные масла обогащены компонентами, легко разрушающимися водяным паром.

Недостатком этого метода является то, что органические растворители содержат примеси, количество которых зависит от чистоты растворителя. Однако даже при использовании химически чистых растворителей концентрация примесей может быть намного больше концентрации анализируемого вещества.

1.5.3. Экстракция перегретыми парами органического растворителя

Метод основан на том же принципе, что и перегонка с водяными парами. В отличие от экстракции растворителями, извлечение перегретыми парами растворителя позволяет извлечь только летучие компоненты: моно-, сескви-, дитерпены и терпеноиды, низшие алифатические и ароматические углеводороды, простые и сложные эфиры, альдегиды, спирты (Ткачев, 2008).

1.5.4. Сверхкритическая экстракция

Экстрагент применяется при таких давлении и температуре, которые превышают его критические параметры. Наиболее часто в качестве экстрагента применяют углекислый газ. В ходе экстракции возможно проведение фракционирования, так как растворимость разных групп веществ при разных температуре и давлении сильно отличается. Состав эфирных масел, получаемых этим способом, часто отличается от состава эфирных масел, экстрагируемых гидро- и пародистилляцией (Machmudah, 2005; Yazdani, 2005; Marongiu, 2007).

Сверхкритическая экстракция применяется в тех случаях, когда нужно сохранить природный характер запаха. Экстракция проходит быстро и максимально полно.

Преимуществом данного метода экстракции является отсутствие в конечном продукте остатков растворителя, возможность проводить процесс экстракции при низких температурах, что особенно важно для растений, компоненты эфирного масла которых разрушаются при воздействии высоких температур. Кроме того, в экстрактах нет примесей (артефактов), и содержится меньшее количество монотерпенов по сравнению с дистилляционными методами. Однако, необходимо учитывать, что углекислый газ является полярным растворителем, и это обуславливает присутствие несвойственных обычным фитоэссенциям веществ (Виноградов, 2006). К тому же этот метод требует специального аппаратного обеспечения, что сказывается на его высокой цене.

Описанными выше методами определяется содержание веществ, принудительно извлекаемых из тканей растения. В большинстве случаев, получаемые такими способами смеси органических веществ заметно отличаются от смеси органических соединений, которые выделяются растением в окружающую среду самопроизвольно. Запах растений определяется той смесью веществ, которая выделяется из растения в атмосферу, следовательно, более информативным для оценки аромата является второй подход, который основан на улавливании веществ в пространстве около органов растения. Наиболее

распространенный в настоящее время способ изучения выделяемой растением смеси органических летучих соединений заключается в улавливании их в газовой фазе около объекта (цветка или другого изучаемого органа растения; *англ.* headspace) с использованием твердофазного сорбента и последующим разделением, и идентификацией методом хромато-масс-спектрометрии.

1.5.5. Твердофазная микроэкстракция

Метод основан на извлечении определяемых компонентов из анализируемого материала за счет сорбции полимером с последующей десорбцией органическими растворителями или термодесорбцией (Ulrich, 2000; Castro, 2008; Zhang, 2010).

1.5.5.1. Прямая экстракция

Метод основан на погружении сорбирующего материала непосредственно в жидкий образец. Например, микроэкстракция на тонкую нить (*англ.* fiber solid phase microextraction - SPME). При этом на полимерном носителе сорбируются как летучие, так и нелетучие компоненты. Отделение летучих соединений происходит на этапе термодесорбции (Ткачев, 2008). Микроэкстракция на тонкую нить применяется, если в водном растворе изучаемого образца отсутствуют углеводы, белки или жиры, и целью является количественный анализ (Roberts, 2000).

1.5.5.2. Экстракция вблизи образца (англ. Headspace)

Метод используется для изучения летучих соединений в непосредственной близости от объекта, например, для изучения аромата цветка в том виде, как его ощущают насекомые или человек. Дает наиболее реалистичное представление о составе смеси компонентов аромата, выделяемой растением в окружающую среду (Dravnieks, 1971; Knudsen, 1993; Roberts, 2000; Augusto, 2003). Так как в отличие от экстракции растворителем или водяным паром сорбция на твердый сорбент вблизи образца является более щадящим методом, позволяющим уловить

компоненты аромата без их разрушения или загрязнения посторонними веществами (Flament, 1993). При этом сорбирующий материал не соприкасается с объектом, а находится в газовой (как правило, воздушной) фазе вокруг объекта. Важно, чтобы материал сосуда, который используется для проведения сорбции, не содержал компоненты, которые задерживают летучие соединения, или выделяют посторонние вещества, загрязняющие пробу. Наиболее распространенные материалы – стекло, металл, тефлон (Tholl, 2006). Различают статическую и динамическую экстракцию (Poddar, 1997).

а). Статическая экстракция

Этот вид экстракции проводится, как правило, в герметично закрытом сосуде, куда помещается исследуемый образец. Через некоторое время, которое предполагает установление равновесия между содержанием летучих соединений в образце и в воздушном пространстве около него, проводится отбор проб воздуха в сосуде. Этот метод предполагает концентрирование летучих соединений в закрытом пространстве и применяется для изучения смесей компонентов, выделяемых растением в небольших количествах (Tholl, 2006). Наиболее современным методом статической сорбции является микроэкстракция на тонкую нить, рассмотренный выше. Однако в этом случае сорбент находится в воздушном пространстве, окружающем образец, не соприкасаясь с ним. Варьируя полярность и толщину покрывающего волокно сорбента, можно отбирать летучие компоненты в широком диапазоне полярности и летучести - от высококипящих или труднолетучих до летучих (Tholl, 2006). Влажность и отсутствие воздухообмена могут влиять на естественную эмиссию летучих соединений при длительном отборе проб. Кроме того, может измениться ритм эмиссии, что невозможно учесть при использовании статического метода экстракции (Biology of Floral Scent, 2006).

б). Динамическая экстракция

Этот вид экстракции представляет собой наиболее часто использующийся метод улавливания летучих соединений. Как и в предыдущем методе образец помещается в закрытый сосуд. Но в этом методе постоянный поток воздуха (или

газа-носителя) циркулирует через образец, увеличивая объем пробы. На пути воздушного потока после продувки образца находится сорбент (фильтр-решетка, с нанесенным слоем сорбента; стеклянная трубка, заполненная сорбентом и т.п.), на котором задерживаются летучие органические соединения. Динамическая экстракция позволяет сократить время отбора пробы, но требует контроля чистоты циркулирующего воздуха от мешающих анализу примесей. Для этого используются специальные фильтры для входящего потока покрытые, например, активированным углем (Biology of Floral Scent, 2006).

Упрощенный вариант этого метода, иногда выделяемый в отдельный (*англ.* pull system), предполагает отбор проб воздуха при помощи специального насоса или шприца, забирающего воздух вблизи образца через определенный слой сорбента (или, например, стеклянную трубку, наполненную сорбентом). Основной недостаток этого метода – возможность загрязнения пробы примесями воздуха (Tholl, 2006).

1.5.6. Инструментальные методы анализа

Разделение компонентов смеси и последующее определение их состава и количественного соотношения предполагает выполнение инструментальных методов анализа. Для разделения веществ наиболее часто используют хроматографические методы, основанные на распределении вещества между двумя фазами – неподвижной и подвижной. Газожидкостная хроматография (ГЖХ) – метод, в котором подвижной фазой является газ (пар), а неподвижной – жидкость, нанесенная на инертный носитель. Газовая хроматография (ГХ) – метод, в котором подвижная фаза – газ (пар), неподвижная – твердый носитель (Ткачев, 2008). Для идентификации и количественного анализа отдельных соединений используют различные детекторы, работающие, как правило, в системе с хроматографом: масс-спектрометрический детектор, ИК-спектрометрия, детектор электронного захвата, пламенно-ионизационный детектор, термоионный детектор, пламенно-фотометрический, детектор по теплопроводности, атомно-эмиссионный детектор, фотоионизационный детектор

и ряд других (Rubiolo, 2010). В большинстве исследований летучих органических соединений, выделяемых растениями, используется метод газовой хроматографии с масс-спектрометрическим детектором (ГХ-МС).

Если отбор ЛОС осуществляется методом твердофазной адсорбции, то перед осуществлением инструментального анализа, пробу вводят в термодесорбер для извлечения уловленных веществ. В ряде случаев для извлечения ЛОС с сорбента применяют органические растворители.

1.5.7. Методы ольфактометрической оценки запаха

Существует множество попыток классифицировать запахи для возможности их четкого научного описания, но единой строгой классификации до сих пор нет (Основы органической химии душистых веществ..., 2006). Тем не менее, уже созданы электронные приборы («электронный нос») для идентификации летучих органических соединений (ЛОС). Под термином «электронный нос» понимаются мультисенсорные системы для экспресс- оценки качества запахов в соответствии с обонятельными образами. Принцип действия основан на детектировании изменения проводимости электрического тока полимерными материалами после поглощения ими ЛОС. Основная задача, решаемая подобными приборами, – идентификация и установление концентрации пахучего вещества, что связано с обработкой данных и идентификацией многомерной картины сенсорных сигналов (Мельникова, 2008).

Тем не менее, нос человека все еще является самым чувствительным и надежным прибором для определения наличия пахучих молекул в концентрациях до 10^{-6} г в 1 м³ воздуха (Основы органической химии душистых веществ..., 2006). Поэтому, для оценки восприятия аромата человеком широко используются органолептические методы. Анализ объектов исследования проводится с участием группы людей в соответствии с установленной методикой. Данные, полученные в ходе тестирования, статистически обрабатываются. На основе полученных результатов делают заключение. С помощью этих методов

оцениваются такие ольфакторные показатели, как приятность аромата, интенсивность, его характер и т.п. по бальной шкале оценок.

Однако стоит иметь в виду, что эти показатели могут оцениваться по-разному разными людьми в зависимости от пола, возраста, состояния здоровья, национальности и даже эмоционального состояния. Поэтому присутствие фактора субъективности при интерпретации результатов органолептических анализов нельзя не принимать во внимание.

1. 6. Современные способы целенаправленного изменения аромата

Для придания аромата срезанным цветам был предложен ряд идей, основанных на экзогенном применении пахучих летучих молекул (US Patent 4827663; US Patent 5353546; US Patent 5477640). Подобные методы используют композиции искусственных или натуральных летучих компонентов для передачи аромата срезанным цветам. Для этого искусственно синтезированные вещества распылялись на цветочную композицию. Многие из этих ароматов готовятся на основе спиртосодержащего растворителя, который испаряется при применении, что позволяет аромату распространяться в воздухе некоторое время. Как правило, подобные ароматы исчерпывают себя через два-три дня после применения, в то время как сами цветы сохраняют свой внешний вид от семи до четырнадцати дней, пока не начнется увядание (US Patent 7087552).

В исследовательском плане не только с теоретических, но и с практических позиций интересно, как создавать, поддерживать, усиливать или изменять цветочный аромат, за счет естественной клеточной активности растений в отношении синтеза и эмиссии пахучих веществ. Такие работы лежат в области биохимических реакций синтеза компонентов запаха самим растением. Вопросы, касающиеся эндогенной модификации цветочного аромата, исследовались, главным образом, с позиций генной инженерии (Broun, 2001; DellaPenna, 2001; Lewinsohn, 2001; Guterman, 2002; Mahmoud, 2002; Verpoorte, 2002; Capell, 2004; Aharoni, 2006; Lückner, 2007; Baldermann, 2009) - влияние на активность генов, участвующих в синтезе компонентов аромата. Генная инженерия предполагает либо введение дополнительных генов, кодирующих ферменты, либо изменение экспрессии уже присутствующих. Однако генный подход, сам по себе, не всегда является достаточным для изменения цветочного аромата. Согласно ряду авторов (Vainstein, 2001; US Patent 7087552; Ben Zvi, 2008; Schie, 2006; Tanaka, 2005; Rodriguez-Conscepcion, 2010; Хелдт, 2011), нехватка доступного субстрата для биосинтеза душистых веществ зачастую является одним из главных лимитирующих факторов этого процесса. Исходя из этого, появилась, на наш

взгляд, интересная и открывающая широкое поле для исследований идея метаболического влияния на цветочный аромат. Данная идея предполагает использование физиолого-биохимических приемов, заключающихся в применении к питанию растения композиции соединений, которая состоит, по меньшей мере, из одного предшественника цветочного аромата. Это такое вещество, которое принимает непосредственное участие в синтезе компонентов аромата растения, и при добавлении которого в питательный субстрат будет изменяться биосинтез и эмиссия этих соединений. Иными словами – это соединение, способное преобразовываться в компонент цветочного аромата путем метаболической активности растительных клеток.

* * *

Итак, исходя из известных биохимических путей синтеза душистых компонентов в растении (раздел 1.3), 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 (рис. 2). Кроме того, для дальнейших исследований могут представлять интерес следующие возможные пары «предшественник – компонент аромата»: шикимовая, салициловая кислоты (как стимулятор синтеза ароматических соединений), мевалоновая кислота, изопентилдифосфат, геранилдифосфат, фарнезилдифосфат (терпены и терпеноиды), жирные кислоты. Наибольший интерес, с нашей точки зрения, представляют исследования воздействия перечисленных веществ, как индивидуально, так и в различных комбинациях, на испускаемую розами смесь пахучих веществ в условиях водной культуры со срезанными цветами, так как конечным итогом работ может стать определенная смесь действующих веществ – предшественников, которая будет доступна в готовом виде совместно с букетами роз в местах их реализации.

ГЛАВА 2. ОБЪЕКТЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

2.1. Объекты 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.

2.1.1. Характеристика выбранного сорта роз

Для исследования использовали сорт шрабовых (спрей) роз французской селекции фирмы Meilland, обладающих слабым, невыраженным ароматом, - сорт Flash Night.

Таблица 2.

Основные характеристики сорта роз Flash night (по данным компании Meilland)

Сорт розы	Flash night
Размер цветка	3-4 см
Высота куста	70-80 см
Отношение к мучнистой росе*	+++
Цвет	Полосатый красный с белым
Количество цветков на стебле	5-10

Примечание: * максимальная устойчивость + + +

Розы выращивали в контролируемых условиях защищенного грунта.

2.1.2. Параметры и агрохимическая характеристика грунта

В опытах применяли грунты, состоящие из торфа промышленного производства (Т) – торфяной питательный субстрат из верхового сфагнового торфа низкой степени разложения, избыточная кислотность которого нейтрализована известковой мукой, и агроперлита (П) или перлита вспученного, имеющего очень высокую пористость (70-90 %), который характеризовался

насыпной плотностью 100 кг/м^3 , зерновому составу по объему: более 5,0 мм – 5 %, менее 1,25 мм – 8 % (Апрелевский завод теплоизделий).

Таблица 3.

Агрохимическая характеристика грунта перед закладкой опыта (средние данные за 3 года) (Сухая, 2009)

Грунт	рН	$C_{\text{орг}}^*$, %	NO_3^-	P_2O_5	K_2O
			мг/100г		
ТПВ	$6,4 \pm 0,3$	$50,8 \pm 3,9$	$27,9 \pm 5,1$	$54,2 \pm 3,8$	$69,8 \pm 7,3$
ТП	$6,9 \pm 0,1$	$24,9 \pm 2,1$	$7,9 \pm 0,9$	$22,2 \pm 1,2$	$27,0 \pm 2,3$

$C_{\text{орг}}$ – потери при прокаливании

Определение рН и питательных элементов проводили в грунтах, высушенных до воздушно-сухого состояния. Параметры агрохимических характеристик для грунтов определили общепризнанными методами при соотношении грунт: вода = 1:10 (Практикум по агрохимии, 2001). Содержание общего азота, фосфора и калия в корнях, листьях и стеблях растений определяли после мокрого озоления по Гинзбург в концентрированной серной кислоте с добавлением конц. хлорной кислоты в качестве катализатора: $N_{\text{общ}}$ - методом Кьельдаля, K_2O – на пламенном фотометре Flama FP 640, Финдландия, P_2O_5 – колориметрически по Дениже на фотометре КФК-3-01 «ЗОМЗ», Россия. Белковый азот, после осаждения белка и мокрого озоления фильтра в концентрированной серной кислоте с добавлением конц. хлорной кислоты в качестве катализатора – методом Кьельдаля, углеводы – фотометрически с пикриновой кислотой.

Эксперименты проводили со срезанными цветами роз (длина стебля – 20 см).

2.2. Состав питательного раствора. Схема опыта

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; MgSO_4 – 0,25; KH_2PO_4 – 0,25;

KNO_3 – 0,25; FeSO_4 – 0,05 (контрольный вариант) с добавками предполагаемых предшественников душистых веществ (табл.4).

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.

Таблица.4.

Обозначение вариантов опыта

Вещество/ обозначение	Время, ч.		
	24	48	72
Контроль	Контр.	Контр. 48	Контр. 72
Бензойная кислота	<u>БК</u> , <u>БК 24</u>	<u>БК. 48</u>	– *
Ацетилсалициловая кислота	<u>АЦ</u> , <u>АЦ 24</u>	<u>АЦ 48</u>	–
	АЦ×2 24	АЦ×2 48	
Фенилаланин	<u>ФА</u> , <u>ФА 24</u>	<u>ФА 48</u>	–
	ФА×2 24	ФА×2 48	
Коричная кислота	<u>Коричн.</u>	–	–
Ацетат натрия	<u>АцетатNa</u>	–	–

Примечание: в числителе – обозначение вариантов опыта с концентрацией внесенного вещества 1 мг/мл, в знаменателе – с концентрацией 2 мг/мл; * – не исследовался.

2.3. Методы исследования

Описанные в литературе методики, используемые для улавливания цветочных летучих органических соединений, нам не подходили ввиду отсутствия необходимого оборудования (стеклянная камера с автоматическим продувом, колонка, тенакс; шприц Фибера). Как следствие, возникла задача подбора и доработки методики улавливания ЛОС с учетом выбранного объекта и

в количестве, достаточном для проведения инструментальных методов анализа, а именно на газовом хроматографе с масс-селективным детектором.

2.3.1. 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 (раздел 3.1, 3.4).

Отбор проб. Цветки роз помещали в стеклянную емкость с двумя отводами для входа и выхода газа. Затем к одному из отводов подсоединяли стеклянную трубку (6×115 мм), заполненную полимерным адсорбентом (Tenax TA, зернение 0,20-0,25 мм, удельная площадь сорбции $35 \text{ м}^2/\text{г}$).

Через адсорбционную трубку прокачивали анализируемый воздух из емкости с цветками роз при помощи стеклянного шприца объемом 150 мл. Общий объем воздуха на пробу составил 600 мл. Эксперимент проведен в трех повторностях.

Выполнение измерений. Далее трубку помещали в термодесорбер АСЕМ-9000, подсоединённый к хромато-масс-спектрометру FOCUS DSQ-11 фирмы Финниган (США), на котором проводили хроматографический анализ с последующей масс-спектрометрической идентификацией. Выходящая из термодесорбера проба поступала в стеклянную капиллярную хроматографическую колонку с неподвижной фазой DB-1 (толщина покрытия 1 мкм). Хроматографирование проводили в динамическом режиме нагрева колонки от 30 до 250°C со скоростью 6,5 град/мин. Газ-носитель гелий, скорость потока $1,6 \text{ см}^3/\text{мин}$. Идентификацию хроматографических пиков осуществляли с

помощью библиотеки масс-спектров NIST 8. Хроматограммы записывали при сканировании в диапазоне масс 41 – 250.

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

За основу была взята методика хромато-масс-спектрометрического определения химических веществ, обуславливающих запахи 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 (разделы 3.2, 3.3).

Отбор проб. Цветки роз помещали в стеклянную емкость с двумя отводами для входа и выхода газа. К одному из них подсоединяли насос (использовали насос Aim A-2500, скорость потока воздуха 1,2 л/мин) для обеспечения постоянной циркуляции воздуха через цветки, к другому - стеклянную трубку, через которую выходящий поток воздуха направлялся непосредственно на сорбент (активированный уголь марки «Serva» с удельной площадью сорбции 717,7 м²/г по N₂). Уголь наносили тонким слоем на дно чашечки Петри (D=4см). Улавливание летучих компонентов проводили в термостате при температуре 50°C (для усиления процесса сорбции на угле) в течение часа. Эксперимент проведен в двух повторностях.

Выполнение измерений. Сорбированные на угле вещества смывали диэтиловым эфиром в вials, затем пробу (2 мкл) вводили в инжектор хроматографа. Хроматографирование осуществляли в динамическом режиме нагрева колонки от 50 до 240°C со скоростью 7 град/мин на хромато-масс-спектрометре HP-5973 D Agilent Technologies (США). Вещества идентифицировали с помощью базы данных газохроматографической системы NIST.

2.3.3. 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.

2.3.4. 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 без использования корректирующих коэффициентов по формуле:

$$C = \frac{S_{\text{пика}}}{\sum S_{\text{пиков}}} \times 100\%,$$

где C – относительное содержание вещества в пробе, %; $S_{\text{пика}}$ – площадь пика вещества на хроматограмме, $\sum S_{\text{пиков}}$ – сумма площадей пиков на хроматограмме всех идентифицированных в пробе веществ.

Для статистической обработки результатов и их графического представления использовали программы «Excel 2003», «Excel 2010» и программный пакет для статистического анализа данных «STATISTICA 10».

Анализ вариантов включал в себя сравнение по общему количеству идентифицированных веществ, по содержанию 3,5-диметокситолуола (3,5-ДМТ) и 1,3,5-триметоксибензола (1,3,5-ТМБ) как основных характеристических компонентов аромата роз. Отмечали появление новых уникальных веществ.

ГЛАВА 3. ИЗМЕНЕНИЕ КАЧЕСТВЕННЫХ И КОЛИЧЕСТВЕННЫХ ХАРАКТЕРИСТИК АРОМАТА СРЕЗАННЫХ РОЗ (ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ)

3.1. 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 (табл.П.1-2).

Наибольшим содержанием характеризуется группа терпеновых углеводородов – с общим содержанием до 67,5%. Преобладающими (по содержанию, %) индивидуальными веществами в этой группе являются кариофиллен (до 35), γ -кадинен и α -пинен (до 15), β -пинен (до 8), гермакрин D (до 5,5), лимонен (до 4,5), оцимен (до 4). Содержание каждого из перечисленных компонентов варьирует в зависимости от варианта, однако в сумме они составляют наибольшую часть группы терпеновых углеводородов. Это объясняется тем, что некоторые терпеновые синтазы катализируют продуцирование более чем одного компонента (Gershenzon, 1999; Chen, 2003; Tholl, 2005). Поэтому для таких терпенов характерно совместное присутствие в смеси ЛОС, в частности, для лимонена, оцимена, кариофиллена, α - и β -пиненов, гермакрин D (Biology of Floral Scent, 2006). Среди идентифицированных терпенов можно выделить монотерпены: камфен, карен, лимонен, оцимен, α - и β -пинены – более летучая фракция, и сесквитерпены: кариофиллен, γ - и δ -кадинены, копаен, гермакрин D, α -гумулен, α -мууролен, α -кубебен, α -аморфен – менее летучая фракция.

Перечисленные соединения в чистом виде обладают различными характеристиками аромата. Кариофиллен имеет острый древесный запах, δ -кадинен – древесный запах с нотой можжевельника, гермакрин D –приятный розоподобный запах, α - и β -пинены – своеобразный запах хвои сосны, камфен –

приятный, слегка камфорный, лимонен – приятный лимонный, карен – запах, напоминающий аромат сосновой древесины, запах копаена отмечается как приятный (ЭСБЕ, 1901; Братус, 1992; Войткевич, 1994; Хейфиц, 1994; Основы органической химии душистых веществ ..., 2006).

Следующие по количественному содержанию группы соединений – спирты (до 28,7%) и эфиры (до 20,9%). Преобладающими (по содержанию, %) индивидуальными веществами в группе спиртов являются: 2-бутанол (до 9,6) и 3-гексенол (до 10), идентифицированные во всех вариантах опыта (табл. П.2). Алифатические спирты представлены C_4 - C_8 насыщенными и ненасыщенными соединениями. Содержание компонентов изменяется в зависимости от внесенного предшественника, однако преобладающей фракцией в группе являются предельные спирты – на их долю приходится около 17% от смеси ЛОС. На втором месте по общему содержанию в группе спиртов находятся непредельные спирты (до 13,9%), затем – ароматические – бензиловый спирт (до 0,7%) и терпеновые – ментол (0,4%), обнаруженный только в варианте с ацетилсалициловой кислотой (табл. П.2).

Спирты с шестью атомами углерода – гексанол, 3-гексенол и 2-гексенол, наряду с соответствующими им альдегидами являются распространенными летучими соединениями цветков и зеленых листьев, отвечая за их свежий травяной, «зелёный» аромат; 2-этилгексанол обладает свежим цветочно-цитрусовым сладковатым ароматом (The good scents company, <http://www.thegoodscentscompany.com>); бензиловый спирт в чистом виде имеет слабый приятный запах с легким миндальным оттенком (Войткевич, 1994; Хейфиц, 1994; Основы органической химии душистых веществ ..., 2006; Bauer, 2011). В целом, для роз сорта «Flash Night» отмечено типичное для слабопахнущих сортов роз отсутствие терпеновых спиртов (гераниол, линалоол, цитронеллол и др.) – характерных компонентов смеси ЛОС многих парфюмных и эфиромасличных роз (Biology of Floral Scent , 2006).

Эфиры представлены, главным образом, ароматическими соединениями (93,7-100% от суммарного содержания эфиров в смеси). Преобладающими (по

содержанию, %) индивидуальными веществами в этой группе являются 3,5-диметокситолуол – 3,5-ДМТ (до 16,7), 1,3,5-триметоксибензол – 1,3,5-ТМБ (до 2,1), идентифицированные во всех вариантах, и метилбензоат (2,3), присутствующий только в варианте с внесением бензойной кислоты. Содержание единственного обнаруженного алифатического эфира – метилацетата не превышает 0,8% от смеси ЛОС. Представители терпеновых эфиров, в частности ацетаты, в смеси ЛОС роз обнаружены не были, что отмечалось в более ранних исследованиях для роз со слабым ароматом (Biology of Floral Scent, 2006). Эфиры ароматических кислот в чистом виде, как правило, обладают сладким бальзамическим, слегка фенольным ароматом – метил- и диметилсалицилаты, метилбензоат (придает «медицинско-фенольный» оттенок запаха); анизол – эфирным с анисовым оттенком; м-метиланизол – цветочным нарциссовым; метилэвгенол – сладким свежим с нотками гвоздики и корицы; метилацетат имеет сладкий фруктовый запах (Виноградов, 2006; The good scents company, <http://www.thegoodscentscompany.com>). Ароматические эфиры, составляющие большую часть рассматриваемой группы, - 1,3,5-триметоксибензол и 3,5-диметокситолуол обладают розоподобным ароматом и, несмотря на высокий порог восприятия, считаются основными компонентами смеси ЛОС для многих сортов роз.

Суммарное содержание альдегидов и кетонов в обсуждаемой смеси органических соединений колеблется от 2,6% до 21,6% с доминированием альдегидов. Среди последних преобладают предельные и непредельные алифатические альдегиды, в особенности C_6 -соединения: гексаналь, гексеналь, 2-гексеналь и 3-гексеналь – летучие вещества, отвечающие за свежий травяной запах зелёных листьев и цветков. н-Деканаль в чистом виде в высоких концентрациях обладает неприятным тоном, а совместно с другими соединениями оказывает большое влияние на запах цитрусовых. н-Нонаналь – важный компонент запаха розового масла и фитоэссенции мандарина (Виноградова, 2006). Бензальдегид был идентифицирован во всех вариантах опыта в концентрации не превышающей 1%. В чистом виде обладает резким запахом горького миндаля

(Химия природных соединений, 2007). Терпеновые альдегиды в смеси компонентов аромата исследуемых роз обнаружены не были. В группе кетонов присутствуют предельные, алициклические, ароматические и терпеновые соединения. Преобладающими (по содержанию, %) индивидуальными веществами в этой группе являются 2-бутанон (до 2,0) и ацетофенон (до 1,6). Бутилциклогексанон и 3-пентанон были идентифицированы только в одном варианте – с ацетилсалициловой кислотой и с ацетатом натрия, соответственно. Детальный анализ состава смеси летучих органических соединений различных вариантов опыта показал, что основными по содержанию индивидуальными компонентами являлись кариофиллен, 3,5-диметокситолуол, γ -кадинен и α - и β -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. 5, П.2).

Таблица 5.

Содержание основных компонентов смеси летучих органических соединений роз, %

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

Однако в зависимости от состава питательного раствора (внесенного предшественника) соотношение идентифицированных компонентов композиции аромата роз менялось по сравнению с таковым для контрольного варианта (рис. 3, 5-11).

3.1.1. Контрольный вариант

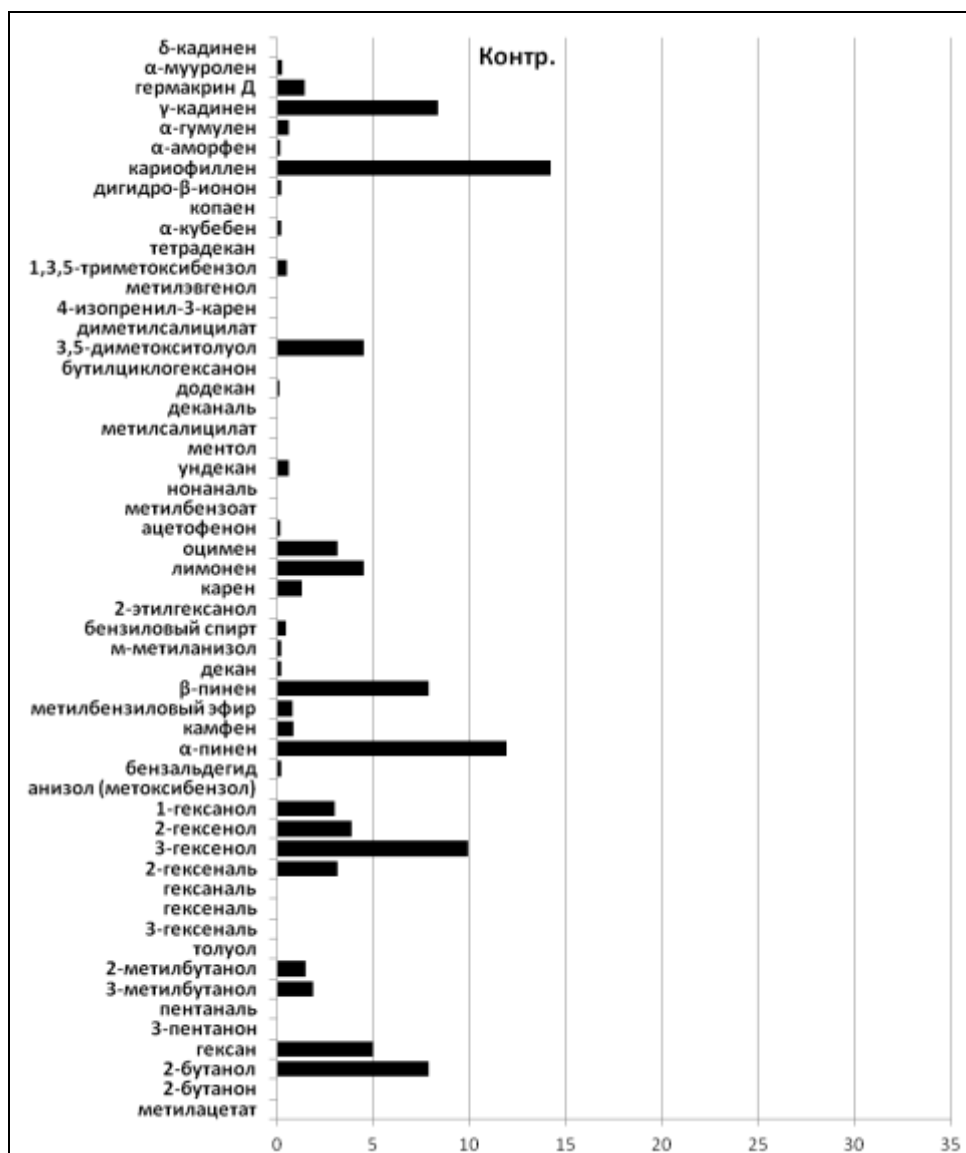


Рисунок 3. Состав смеси ЛОС роз контрольного варианта, %

В контрольном варианте большую часть смеси занимают терпены и их производные – 55% (рис. 4, табл.П.3). Только одно из этих соединений – дигидро-β-ионон - кислородсодержащее. Считается, что дигидро-β-ионон отвечает за фруктовые с нотками малины оттенки аромата роз (Brunke, 1992).

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. 4, табл.П.3).

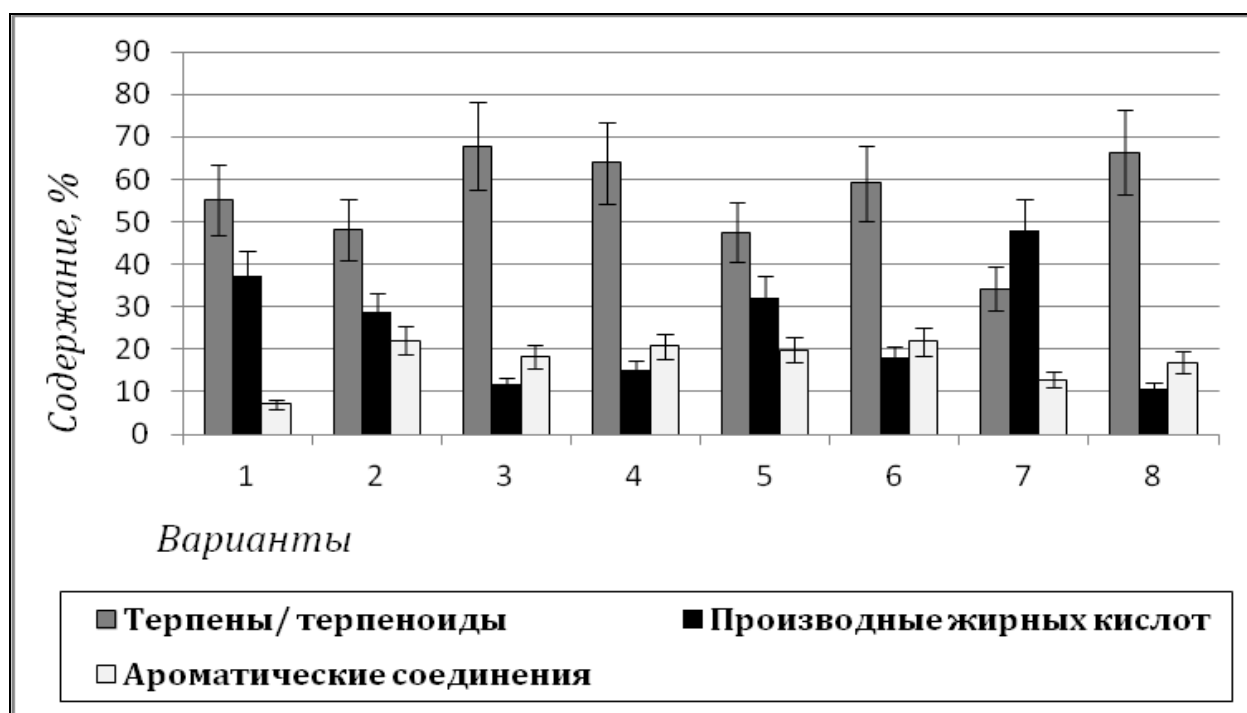


Рисунок 4. Изменение содержания основных групп летучих органических соединений, выделяемых растениями (розы), в зависимости от добавок, внесенных в питательный раствор: 1 - контроль, 2 - бензойная кислота, 3 - ацетилсалициловая кислота, 4 - фенилаланин, 5 - коричневая кислота, 6 - смесь фенилаланина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

Индивидуальными веществами, входящими в состав смеси летучих органических соединений контрольного варианта, с различными пиками являлись (в порядке убывания, %) кариофиллен (14,2) > α -пинен (11,9) > 3-гексенол (10) > γ -кадинен (8,4) > β -пинен (7,9) = 2-бутанол (7,9) > гексан (5,0) > 3,5-диметокситолуол (4,5) > лимонен (4,5) > 2-гексенол (3,9) (рис.3).

3.1.2. 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. 4, табл.П.3). Ароматические соединения занимают около 18%, производные жирных кислот – 12% от суммарного содержания летучих органических соединений (рис. 5). Как и в контрольном варианте основная часть ароматических соединений представлена эфирами (около 94%).

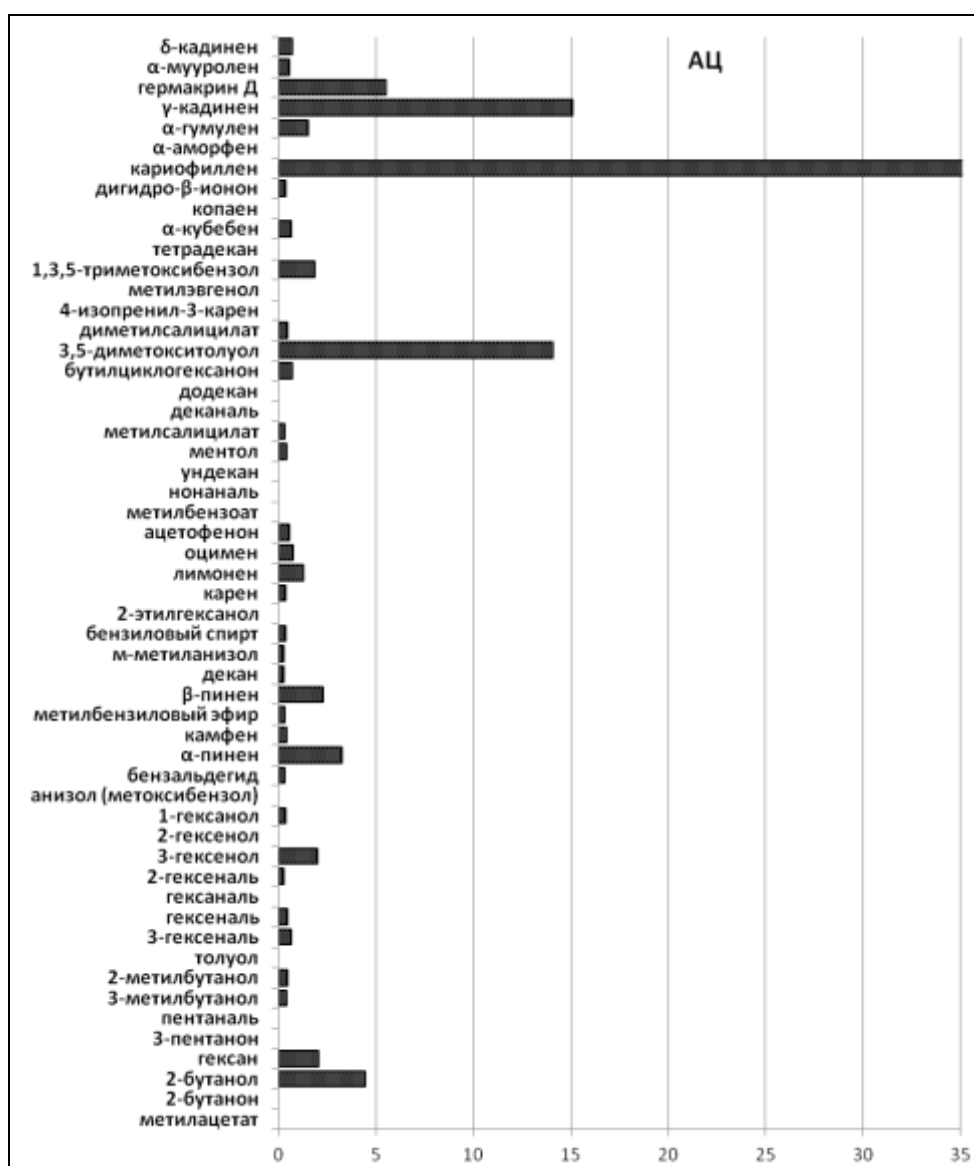


Рисунок 5. Состав смеси ЛОС роз варианта с ацетилсалициловой кислотой, %

Группу производных жирных кислот составляют спирты (65%), углеводороды (18,8%), альдегиды и кетоны (16,2%). Основными

индивидуальными веществами, входящими в состав смеси компонентов аромата роз варианта с внесением ацетилсалициловой кислоты являлись (в порядке убывания, %) кариофиллен (35,4) > γ -кадинен (15,1) > 3,5-диметокситолуол (14,0) > гермакрин Д (5,5) (табл.П.2, рис.5). Как показал сравнительный анализ обсуждаемого варианта с контрольным, наибольший пик в обоих вариантах имеет сесквитерпен кариофиллен (рис.3, 5). Однако в варианте с ацетилсалициловой кислотой он занимает более 35,4% от смеси компонентов, а в контрольном варианте – 14,2%. В варианте с внесением предшественника заметно увеличивается доля и других сесквитерпенов: γ -кадинена (15,1% в сравнении с 8,4% в контрольном варианте), α -кубебена (0,6 и 0,3), α -гумулена (1,5 и 0,6) и гермакрин Д (5,5% и 1,5% в варианте АЦ и контрольном, соответственно) – вещества с приятным запахом, напоминающим розу. Кроме того, появляются соединения, которые отсутствовали в смеси идентифицированных веществ контрольного варианта: δ -кадинен, ментол – монотерпеновый спирт, бутилциклогексанон, диметилсалицилат, метилсалицилат – сложный эфир салициловой кислоты, обладающий сладковатым фенольным запахом, 3-гексеналь и гексеналь – альдегид с запахом зелени с оттенком аромата яблок (Войткевич, 1994). Стоит отметить, что метил- и диметилсалицилаты были идентифицированы только в вариантах с добавлением ацетилсалициловой кислоты, что может быть следствием участия ароматического остатка молекулы в процессах их синтеза. В варианте с внесением ацетилсалициловой кислоты заметно уменьшается относительное содержание монотерпенов – оцимена, лимонена, карена, α - и β -пиненов, камфена; спиртов – 2-бутанола, 2-метилбутанола, 3-метилбутанола, 1-гексанола, 2-гексенола, 3-гексенола; метилбензилового эфира, 2-гексенала и гексана по сравнению с их содержанием в контрольном варианте. Исчезают два предельных углеводорода, присутствовавшие в смеси контрольного варианта, – ундекан и додекан (рис. 3, 5).

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.

3.1.3. Фенилаланин

В варианте с внесением фенилаланина в качестве предшественника большую часть смеси занимают терпены (не окисленные формы), как и в контрольном варианте (рис. 4, табл.П.3). 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 (рис. 6).

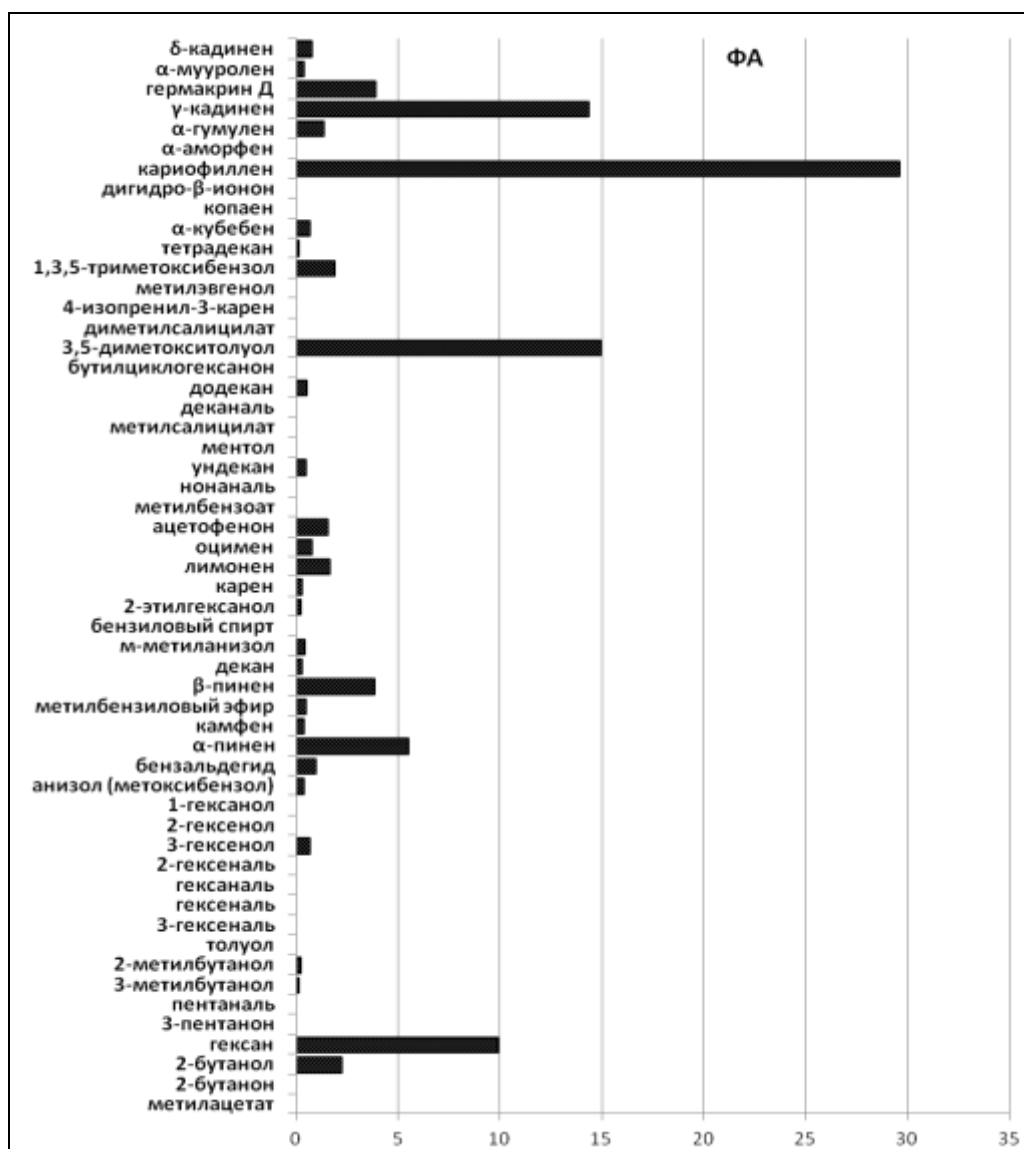


Рисунок 6. Состав смеси ЛОС роз варианта с фенилаланином, %

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. В варианте с внесением в питательный раствор аминокислоты с ароматическим кольцом - фенилаланина - выделенные розой вещества располагаются в следующий ряд по убыванию относительного содержания в смеси, %: кариофиллен (29,6) > 3,5-диметокситолуол (15,0) > γ-кадинен (14,4) > гексан (9,9) > α-пинен (5,5) (табл.П.2, рис. 6).

В сравнении с контрольным вариантом возросло содержание (%) в смеси ЛОС гексана (с 5,0 до 9,9), сесквитерпенов: кариофиллена (с 14,2 до 29,6), γ-

кадинена (с 8,4 до 14,4), гермакрина D (с 1,5 до 3,9), α -гумулена (с 0,6 до 1,4), α -кубебена (с 0,3 до 0,7); эфиров: 3,5-диметокситолуола (с 4,5 до 15,0), 1,3,5-триметоксибензола (с 0,5 до 1,9), м-метиланизола (с 0,2 до 0,4); ацетофенона (с 0,2 до 1,6), и бензальдегида (с 0,2 до 1,0). В то же время доля монотерпенов: α - и β -пинена, камфена, карена, лимонена и оцимена; спиртов: 2-бутанола, 2- и 3-метилбутанолов и 3-гексенола, в варианте с предшественником меньше, чем в контрольном (рис. 3, 6). При добавлении в питательный раствор фенилаланина в смеси выделенных розой веществ появился новый компонент – анизол (метоксибензол) с приятным запахом семян аниса (The good scents company, <http://www.thegoodscentscopy.com>), отсутствующий в смеси ЛОС других вариантов. Сравнительно с контрольным вариантом появились тетрадекан, δ -кадинен и 2-этилгексанол. Кроме того, исчезли α -аморфен, гексанол, 2-гексенол, бензиловый спирт, дигидро- β -ионон и 2-гексеналь.

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. Что можно рассматривать как результат действия этого предшественника на процессы биосинтеза 3,5-диметокситолуола в растении.

3.1.4. 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% (табл.П.3). Таким образом, в сравнении с распределением веществ по трем основным группам органических соединений контрольного варианта распределение в варианте с бензойной кислотой более равномерно (рис. 4).

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. 7).

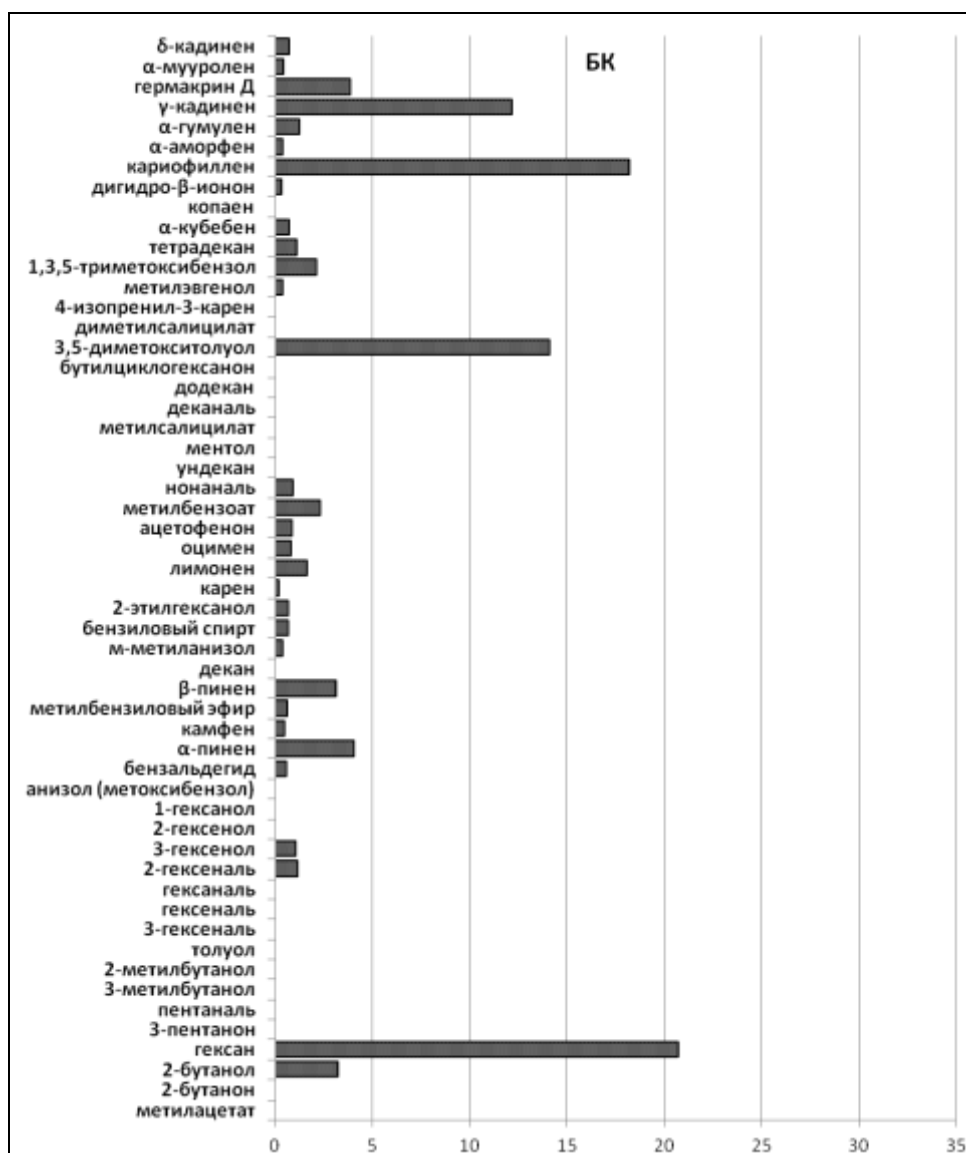


Рисунок 7. Состав смеси ЛОС роз варианта с бензойной кислотой, %

Основными индивидуальными веществами, входящими в состав смеси компонентов аромата роз варианта с внесением бензойной кислоты являлись (в порядке убывания, %) гексан (20,7) > кариофиллен (18,2) > 3,5-диметокситолуол (14,1) > γ-кадинен (12,2) (табл.П.2).

Возросла по сравнению с контрольным вариантом доля в смеси терпенов: кариофиллена (14,2 и 18,2), γ-кадинена (8,4 и 12,2), гермакрина D (1,5 и 3,9), α - кубебена (0,3 и 0,7), α-аморфена (0,2 и 0,4) и α-гумулена (0,6 и 1,3); ароматических эфиров: 3,5 - диметокситолуола (4,5 и 14,1) и 1,3,5-триметоксибензола (0,5 и 2,1); гексана (5,0 и 20,7, соответственно), бензальдегида (0,3 и 0,6), ацетофенона (0,2 и 0,9). Относительное содержание таких компонентов как 2-бутанол, 3-гексенол, α-

и β -пинен, карен, лимонен и оцимен, наоборот, уменьшается. Вариант с добавлением бензойной кислоты отличается от контрольного варианта появлением следующих компонентов аромата: тетрадекан, δ -кадинен, 2-этилгексанол, метилбензоат, метилэвгенол и нонаналь (рис.3, 7). Стоит отметить, что метилбензоат – ароматический эфир, обладающий цветочно-миндальным запахом с фенольным оттенком (The good scents company, <http://www.thegoodscentscompany.com>), был обнаружен только в обсуждаемом варианте.

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 (рис. 2). Кроме того, отмечено повышенное содержание предельного углеводорода гексана по сравнению с его содержанием в композициях ЛОС других вариантов.

3.1.5. 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. 4, табл.П.3). 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).

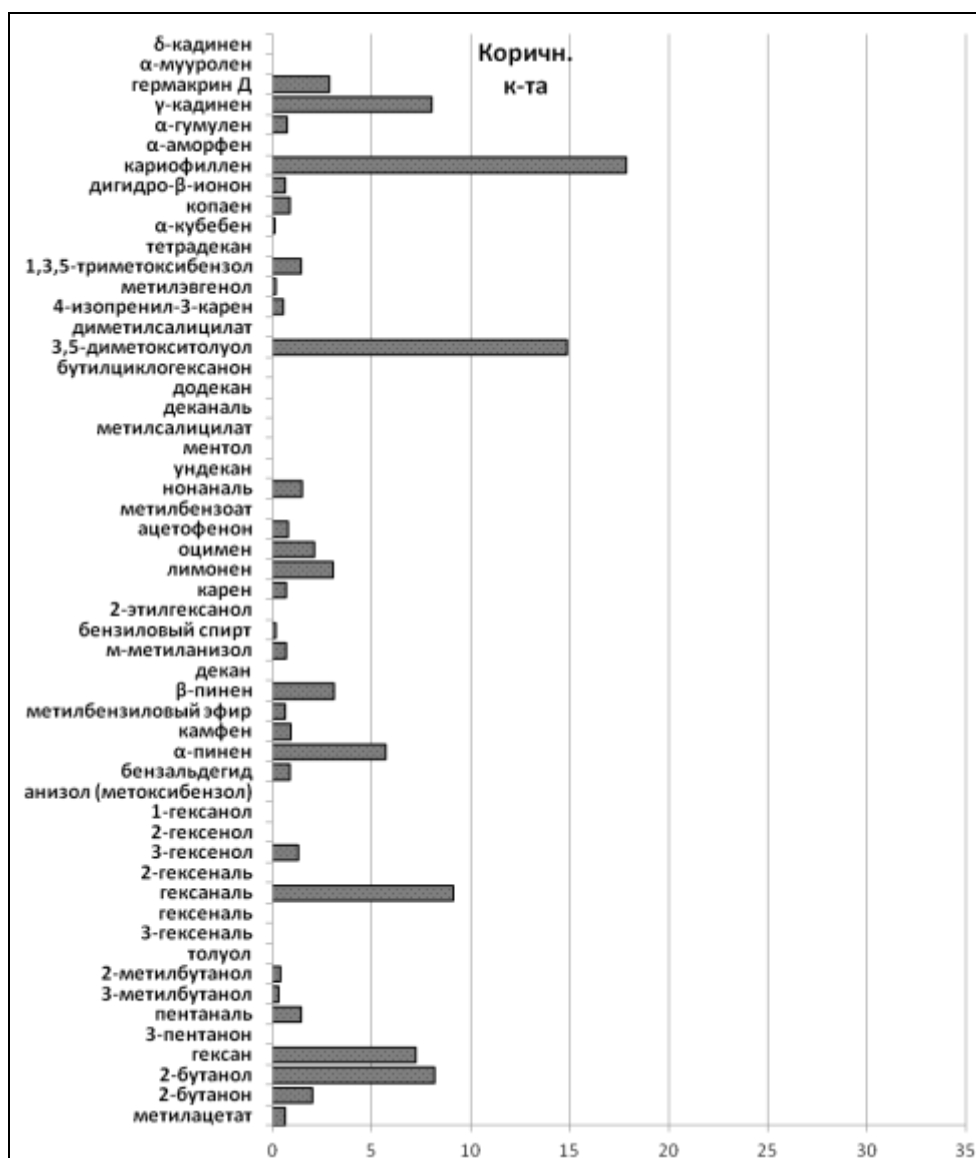


Рисунок 8. Состав смеси ЛОС роз варианта с коричневой кислотой, %

Основными индивидуальными веществами, входящими в состав смеси компонентов аромата роз варианта с внесением коричневой кислоты являлись (в порядке убывания, %) карифиллен (17,9) > 3,5-диметокситолуол (14,9) > гексаналь (9,2) > 2-бутанол (8,2) > γ-кадинен (8,1) > гексан (7,3) > α-пинен (5,7) (табл.П.2, рис. 8).

В сравнении с контрольным вариантом возросла доля в смеси следующих соединений (%): терпенов - карифиллена (14,2 и 17,9) и гермакрина Д (1,5 и 2,9); ароматических эфиров - 1,3,5-ТМБ (0,5 и 1,5), 3,5-ДМТ (4,5 и 14,9) и m-метиланизола (0,2 и 0,7); гексана (5,0 и 7,3), бензальдегида (0,3 и 0,9), ацетофенона (0,2 и 0,8), дигидро-β-ионона (0,3 и 0,7) (рис. 3, 8). Относительное

содержание таких терпенов как α - и β -пинены, карен, лимонен и оцимен, а также спиртов: 2-метилбутанола, 3-метилбутанола, 3-гексенола, бензилового, наоборот, уменьшается (табл.П.2).

Вариант с добавлением коричной кислоты отличается от контрольного варианта появлением некоторых компонентов аромата. А именно - терпенов: 4-изопренил-3-карена, копаена; ароматических соединений: метилацетата, метилэвгенола; альдегидов и кетонов: пентаналь, гексаналь, нонаналь, 2-бутанона (рис. 7). Кроме того, исчезли некоторые предельные углеводороды: декан, ундекан и додекан; терпены: α -аморфен и α -мууролен; алифатические спирты: гексанол, 2-гексенол и альдегид 2-гексеналь.

В целом, доля ароматических соединений в смеси летучих компонентов варианта с внесением коричной кислоты почти в 3 раза выше, чем контрольного варианта (рис. 4), 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 (табл. 5).

3.1.6. Ацетат натрия

Соотношение основных биохимических групп соединений в варианте с внесением ацетата натрия аналогично соотношению в варианте с ацетилсалициловой кислотой (рис. 4). 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) (табл.П.3). 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 углеводородов. В целом на производные жирных кислот приходится 10,7% от суммарного содержания компонентов (рис. 9).

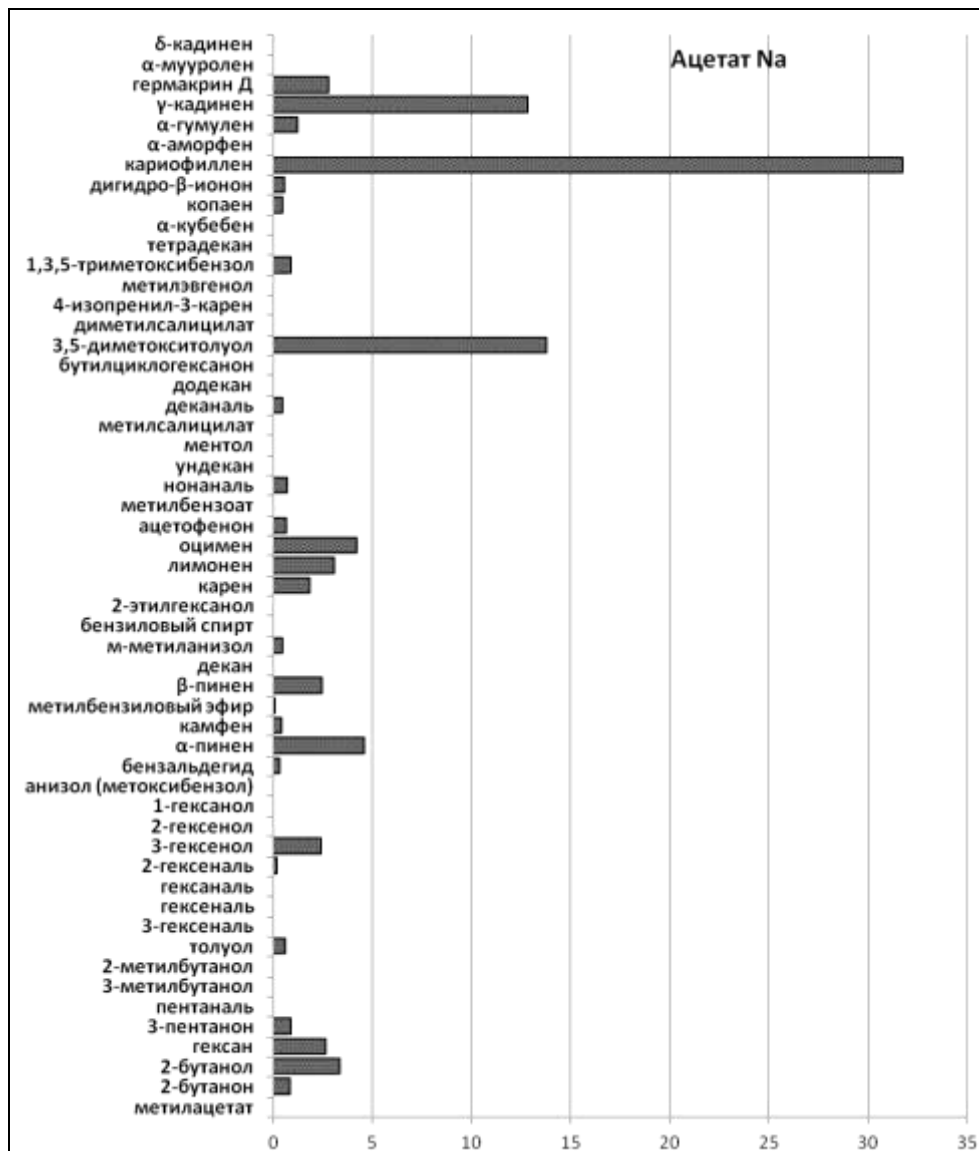


Рисунок 9. Состав смеси ЛОС роз варианта с ацетатом натрия, %

Основными индивидуальными веществами, входящими в состав смеси компонентов аромата роз варианта с внесением ацетата натрия, являлись (в порядке убывания, %) кареофиллен (31,8) > 3,5-диметокситолуол (13,8) > γ-кадинен (12,8) (табл.П.2). В сравнении с контрольным вариантом возросло относительное содержание (%) в смеси монотерпенов: карена (1,3 и 1,8) и оцимена (3,2 и 4,2); сесквитерпенов: кареофиллена (с 14,2 до 31,8), α-гумулена

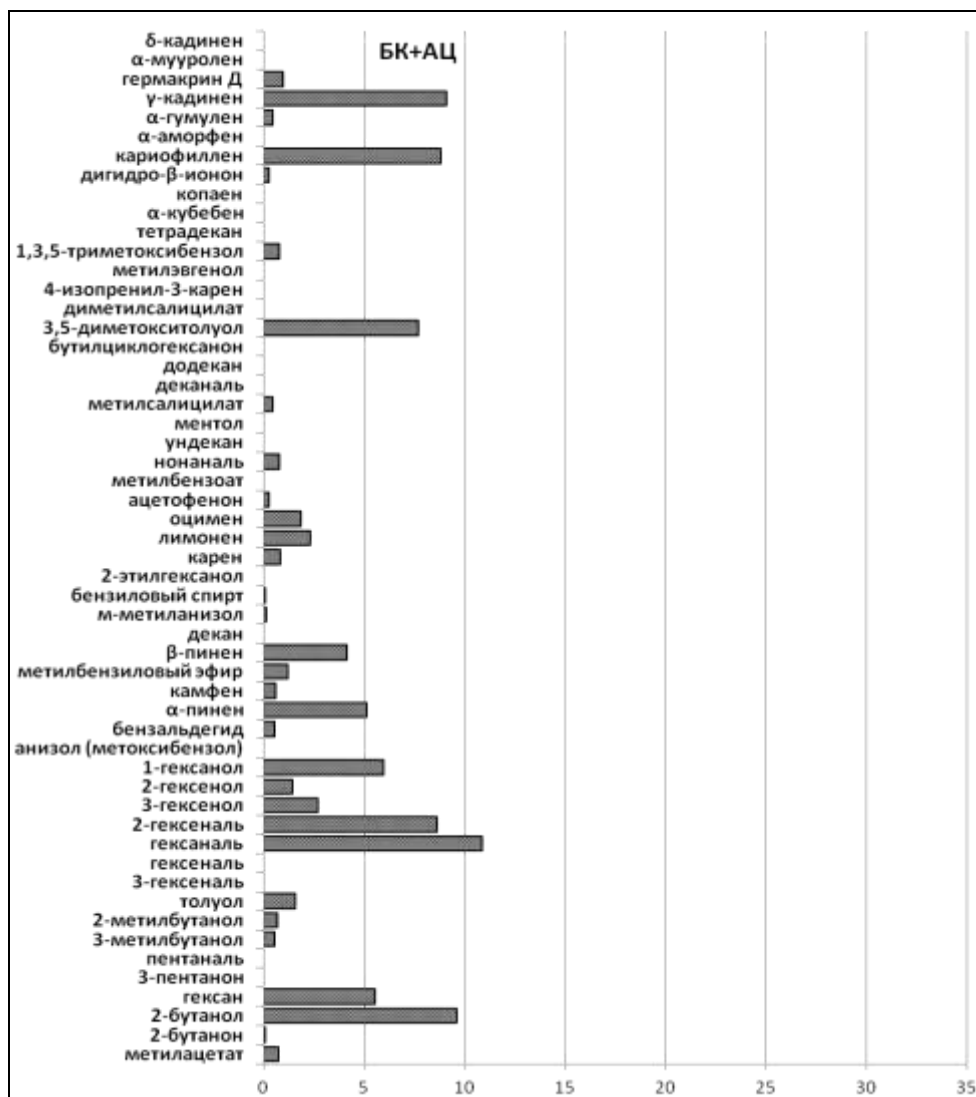
(0,6 и 1,2), γ -кадинена (8,4 и 12,8), гермакрин D (1,5 и 2,8); ароматических эфиров: м-метиланизола (0,2 и 0,5), 3,5-ДМТ (4,5 и 13,8), 1,3,5-ТМБ (0,5 и 0,9) и кетонов: ацетофенона (0,2 и 0,7), дигидро- β -ионона (0,3 и 0,6) (рис. 9).

Относительное содержание таких терпенов как α - и β -пинены, камфен, лимонен, спиртов: 2-бутанол, 3-гексенол; метилбензилового эфира и непредельного альдегида 2-гексеналя, наоборот, уменьшилось. Вариант с добавлением ацетата натрия отличается от контрольного варианта появлением следующих компонентов аромата: копаен, нонаналь, 2-бутанон, толуол, деканаль и 3-пентанон, два последних из которых были идентифицированы только в обсуждаемом варианте (рис. 3, 9). Кроме того, исчезли декан, ундекан и додекан, α -кубебен, α -аморфен, α -мууролен, 2- и 3-метилбутанола, гексанол, 2-гексенол и бензиловый спирт (рис. 3, 9). При этом 3,5-ДМТ занимает в 3 раза большую долю от смеси компонентов, чем в контрольном варианте (табл.5, рис. 3, 9). Это может быть следствием добавления в питательный раствор предшественника как источника ацетат-иона, входящего в состав одного из ключевых участников биохимических процессов в растении – ацетил коэнзима А.

Для рассмотрения влияния предшественников - представителей разных биохимических путей синтеза, на компонентный состав аромата роз были составлены две смеси. Первая состояла из ацетилсалициловой кислоты как источника ацетат иона, участвующего в синтезе производных жирных кислот, терпенов и терпеноидов, и бензойной кислоты – предшественника ароматических компонентов аромата (рис. 10).

3.1.7. 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. 4, табл.П.3). Производные жирных кислот представлены спиртами (44%), альдегидами и



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.

Основными индивидуальными веществами, входящими в состав смеси компонентов аромата роз варианта с совместным внесением бензойной и

ацетилсалициловой кислот являлись (в порядке убывания, %) гексаналь (10,9) > 2-бутанол (9,6) > γ -кадинен (9,1) > кариофиллен (8,8) > 2-гексеналь (8,7) > 3,5-диметокситолуол (7,7) > 1-гексанол (6,0) > гексан (5,6) (рис.10, табл.П.2.).

Относительно контрольного варианта увеличивается доля в смеси ЛОС роз следующих соединений: гексана, γ -кадинена, 2-бутанола, гексанола, 2-гексеналя, метилбензилового эфира, 3,5-диметокситолуола, 1,3,5-триметоксибензола, бензальдегида. Отмечено появление ароматического эфира метилсалицилата, идентифицированного только в вариантах с добавлением ацетилсалициловой кислоты – источника салицилат-иона. Кроме того, появляются метилацетат – алифатический эфир с цветочно-фруктовым ароматом; толуол, карбонильные соединения – гексаналь, нонаналь и 2-бутанон, не обнаруженные в контрольном варианте. В то же время, исчезают декан, ундекан и додекан – предельные углеводороды, α -кубебен, α -аморфен и γ -мууролен – сесквитерпеновые углеводороды (рис. 3, 10).

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 раздельным их внесением. Описанная ситуация может свидетельствовать о преимущественном влиянии обсуждаемой смеси предшественников на протекание процессов трансформации жирных кислот (в основном C_{18}) 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_{12} и C_6 соединения, шестиатомные предельные и непредельные альдегиды, кетоны и спирты – распространенные компоненты цветочных летучих органических соединений (табл.П.2).

Интересна и другая особенность обсуждаемого варианта: содержание сесквитерпенового углеводорода кариофиллена в смеси ЛОС значительно меньше (14,2 и 8,8 %) относительно контрольного варианта, тогда как во всех остальных вариантах оно выше. В целом для варианта с совместным внесением бензойной и ацетилсалициловой кислот, заметна тенденция уменьшения доли сесквитерпеновых углеводородов на фоне увеличения ее в других вариантах (табл.П.2).

3.1.8. 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. 4). 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%).

Основными индивидуальными веществами, входящими в состав смеси компонентов аромата роз варианта с совместным внесением фенилаланина и ацетата натрия являлись (в порядке убывания, %) кариофиллен (17,4) > 3,5-диметокситолуол (16,7) > γ -кадинен (12,7) > 2-бутанол (8,0) > α -пинен (7,4) (рис. 11, табл.П.2).

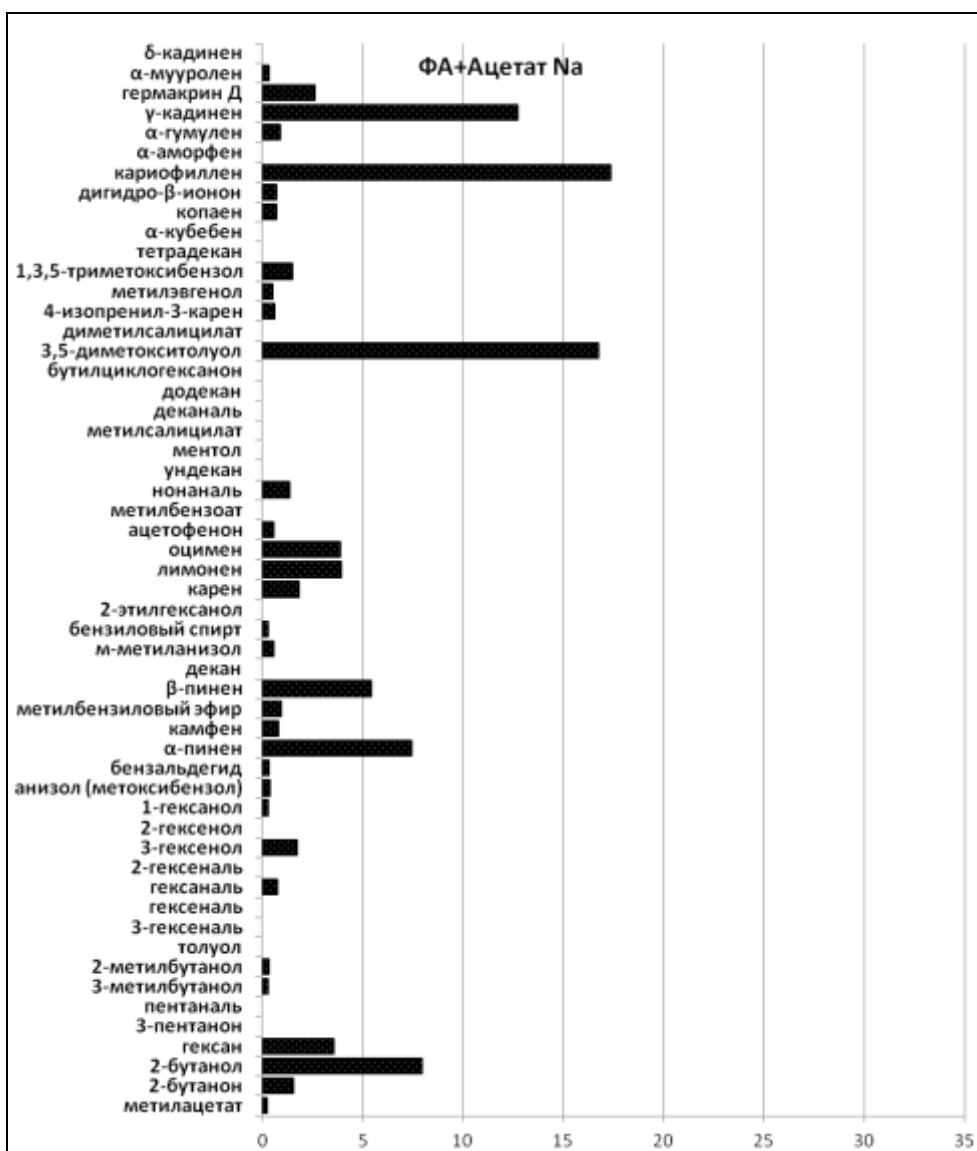


Рисунок 11. Состав смеси ЛОС роз варианта с совместным внесением фенилаланина и ацетата натрия, %

Первые три члена ряда совпадают с основными компонентами смеси ЛОС роз варианта с фенилаланином (рис. 6). 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. 4, табл.П.3). 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. В варианте с совместным внесением фенилаланина и ацетата натрия было отмечено преобладание фракции спиртов и наличие альдегидов и кетонов. Относительно контрольного варианта увеличивается доля в смеси следующих соединений: карена, оцимена, кариофиллена, α -гумулена, γ -кадинена, гермакрина D, м-метиланизола, 3,5-ДМТ, 1,3,5-ТМБ, ацетофенона и дигидро- β -ионона. При этом отмечено появление таких соединений, как 4-изопренил-3-карен, копаен, метилацетат, анизол, метилэвгенол, гексаналь, нонаналь, 2-бутанон. Исчезли декан, ундекан и додекан, α -кубебен и α -аморфен, 2-гексенол и 2-гексеналь (рис. 3, 11). Хочется отметить нехарактерное для остальных вариантов увеличение (относительно контрольного варианта) доли двух монотерпенов – карена и оцимена, которое было отмечено в вариантах с внесением ацетата натрия. Ароматический эфир – метоксибензол (анизол) был идентифицирован только в вариантах с внесением фенилаланина – отдельно и в смеси с ацетатом натрия (табл.П.2).

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).

* * *

Изучение основных характеристических компонентов аромата роз разных вариантов показало, что относительное содержание 3,5-диметокситолуола значительно возрастает во всех вариантах опыта (табл. 5). Наибольшее содержание 3,5-ДМТ отмечено в композиции варианта с внесением смеси фенилаланина и ацетата натрия (табл. 5). Чуть меньше его содержание в вариантах с внесением отдельно фенилаланина и коричной кислоты. Минимальное содержание отмечено в контрольном варианте. При этом соотношение пиков кариофиллен > 3,5-диметокситолуол > δ -кадинен в перечисленных вариантах сохраняется (рис. 3, 5-11). Относительное содержание второго характерного компонента ароматной композиции роз - 1,3,5-ТМБ наибольшее в варианте с бензойной кислотой,

фенилаланином. Наименьшее содержание отмечено также в контрольном варианте.

Сравнение содержания основных биохимических групп веществ в смеси компонентов разных вариантов (рис. 4, табл.П.3) показало, что доля терпенов и терпеноидов в смеси летучих соединений максимальна при отдельном внесении ацетата натрия и ацетилсалициловой кислоты. Это, по-видимому, связано с использованием ацетат-иона в реакциях синтеза летучих органических соединений по ацетатно-мевалонатному пути (рис. 2) и соответствует выдвинутой нами гипотезе. Кроме того, отмечена закономерность в изменении содержания отдельных групп терпенов относительно контрольного варианта. При добавлении предшественников в питательный раствор доля монотерпенов в смеси компонентов уменьшается, доля сесквитерпенов (за исключением варианта с совместным внесением бензойной и ацетилсалициловой кислот), наоборот, возрастает (табл.П.2).

Значительное увеличение доли фенилпропаноидов, в т.ч. бензеноидов отмечено в варианте с внесением бензойной кислоты, фенилаланина, коричной кислоты и совместным внесением фенилаланина и ацетата натрия, в качестве предшественников синтеза ароматических веществ по шикиматному пути, т.е. пути, ведущему к образованию ароматических соединений. Ароматическое кольцо ацетилсалициловой, бензойной кислот и фенилаланина, ассимилированные розами из внесенных предшественников, могли способствовать синтезу ароматических пахучих молекул по шикиматному пути (рис. 2), приводя к образованию таких веществ, как метил- и диметилсалицилат, и увеличивая содержание 3,5-диметокситолуола и 1,3,5-триметоксибензола.

Относительная доля производных жирных кислот в смеси компонентов уменьшается по сравнению с контролем во всех вариантах опыта, кроме варианта с совместным внесением бензойной и ацетилсалициловой кислот, где она максимальна. Таким образом, наибольшие изменения (относительно контрольного варианта) в содержании трех основных групп веществ отмечены в

варианте с внесением бензойной кислоты – возрастает доля ароматических соединений, и ацетата натрия – возрастает доля терпенов и терпеноидов.

При сравнении содержания групп веществ в вариантах с внесением ацетилсалициловой кислоты и ацетата натрия как предшественников синтеза терпенов и терпеноидов значимой разницы не отмечено (табл.П.3). Добавление в вариант с фенилаланином ацетата натрия вызвало увеличение относительного содержания производных жирных кислот по сравнению с отдельным внесением фенилаланина (рис. 4), что согласуется с теоретической схемой биосинтеза (рис. 2). 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.

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

3.2.1. 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. 12).

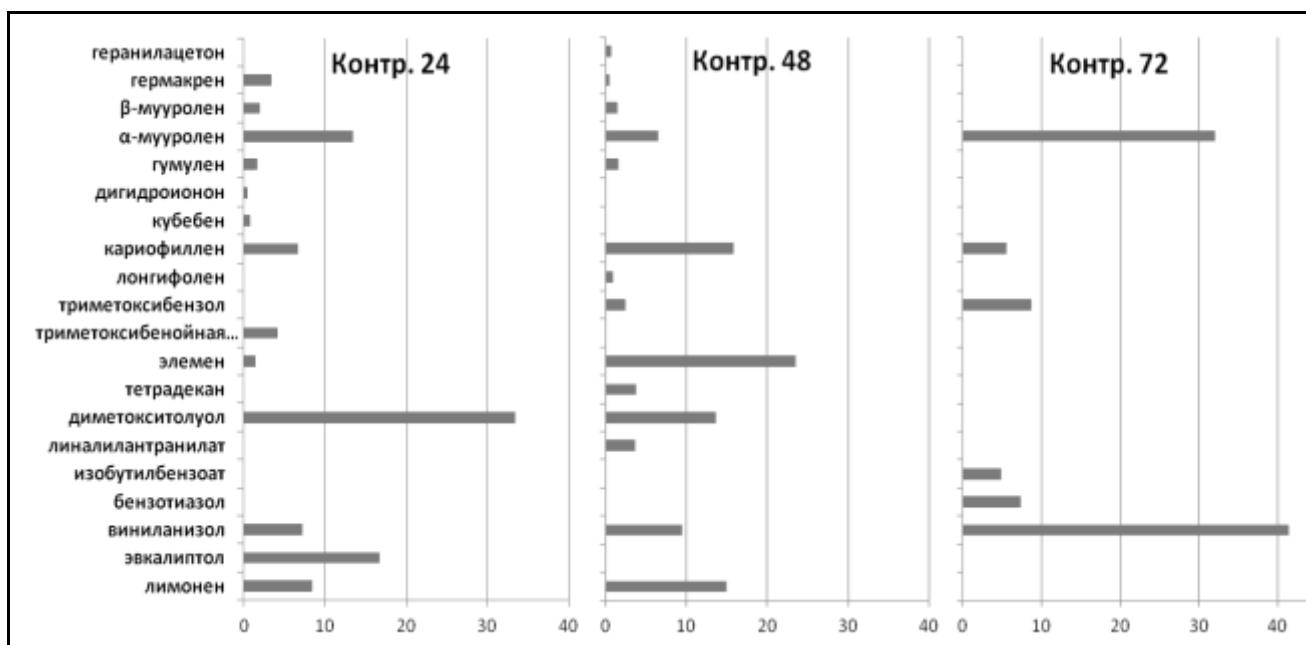


Рисунок 12. Компонентный состав аромата роз (%), находившихся в питательном растворе (контрольный вариант опыта) в течение 24, 48 и 72 часов

Основные по содержанию соединения в варианте с 24-часовой экспозицией (%): 3,5-ДМТ (33,5), эвкалиптол (16,7), α-мууролен (13,5), лимонен (8,4), *n*-виниланизол (7,2) и кариофиллен (6,7). В варианте с 48-часовой – элемен (23,5), кариофиллен (15,8), лимонен (14,9), 3,5-ДМТ (13,7), *n*-виниланизол (9,5) и α-мууролен (6,5). По сравнению со смесью ЛОС 24-часовой экспозиции в варианте 48-часовой экспозиции появляются лонгифолен, геранилацетон и линалилантранилат – ароматический эфир со свежим цитрусово-фруктовым с древесными нотками ароматом (The good scents company, <http://www.thegoodscentscompany.com>). Таким образом, через 48 часов с начала

эксперимента доля 3,5-ДМТ в смеси ЛОС значительно сокращается (с 33,5 до 13,7 %), пропадает триметоксибензойная кислота, но появляется 1,3,5-ТМБ, содержание которого значительно увеличивается (с 2,5 до 8,7 %) на третьи сутки (табл.П.4).

Через 72 часа после начала эксперимента наибольшее содержание отмечено для *n*-виниланизола и α -мууролена (41,5 и 32,1 %, соответственно). Появляются изобутилбензоат и бензотиазол, не обнаруженные в вариантах с 24 и 48-часовой экспозицией растений в растворе. Однако, основной характеристический компонент аромата роз - 3,5-ДМТ - в смеси летучих соединений отсутствует (рис. 12). Исчезает также большая часть терпенов – лимонен, элемен, лонгифолен, кубебен, дигидроионон, гумулен, β -мууролен, гермакрен по сравнению с составом смеси 48-часового варианта.

С увеличением времени экспозиции растений в растворах изменяется также качественный состав и соотношение основных групп (терпены/терпеноиды и ароматические соединения) компонентов аромата (рис. 13, табл.П.4).

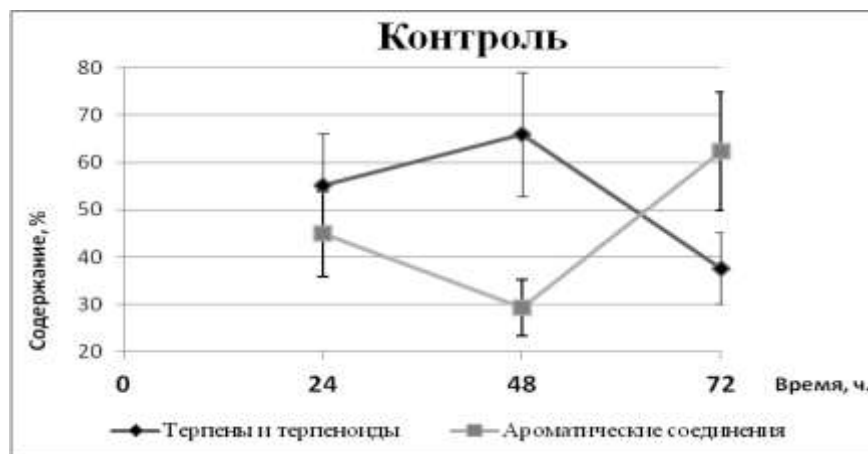


Рисунок 13. Содержание основных биохимических групп летучих органических соединений роз (%) в контрольном варианте, время экспозиции 24, 48 и 72 часа

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%).

Таким образом, можно заключить, что изучаемые интервалы времени (24, 48 и 72 часа) влияют на структуру смеси летучих соединений роз, помещенных в питательный раствор без добавок (контрольный вариант). 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 (рис. 2). 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.

3.2.2. 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) значимо не изменяется (рис. 14). 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 (табл.П.4), как и в контрольном варианте.

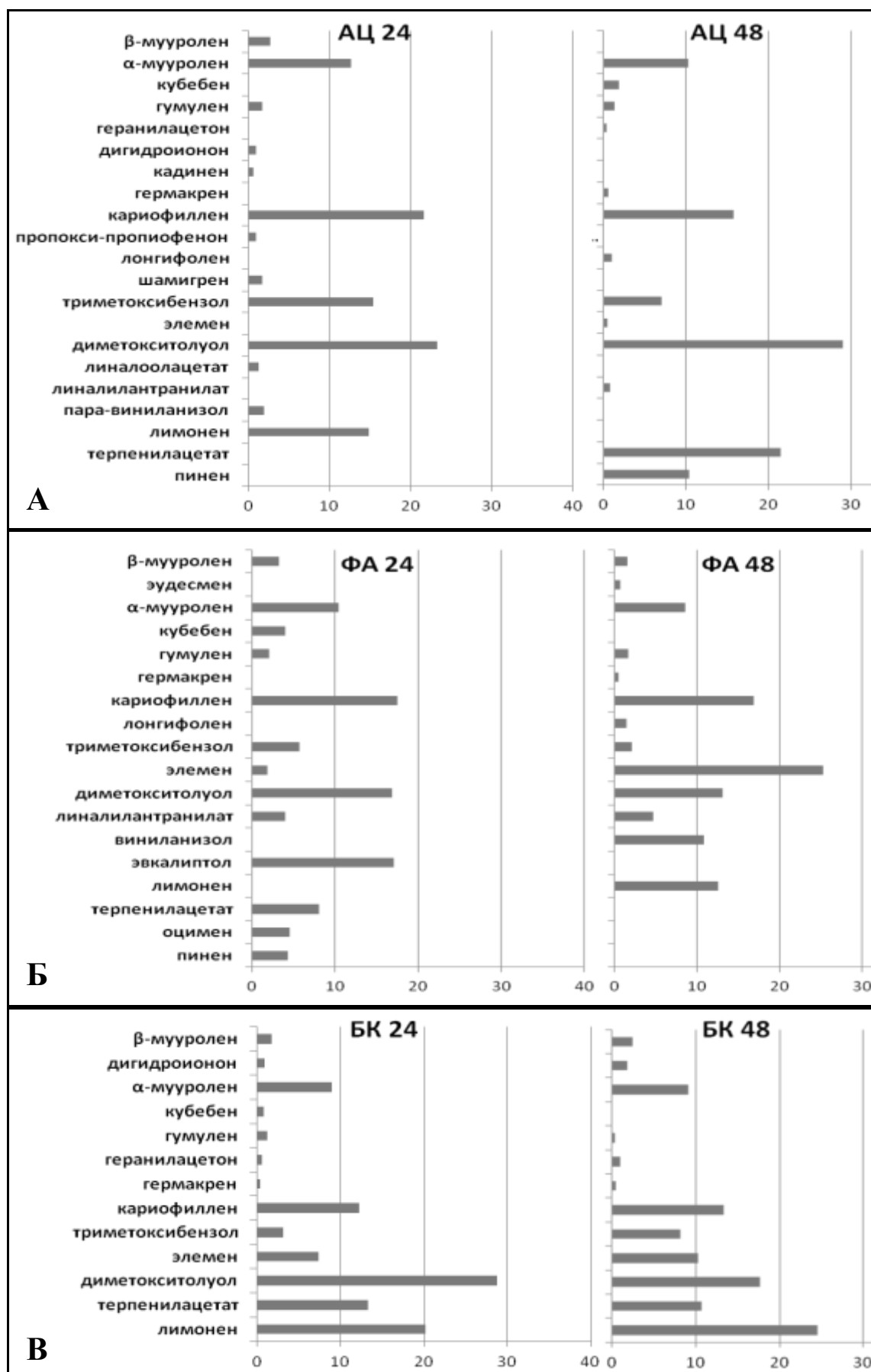


Рисунок 14. Компонентный состав аромата роз (%) при внесении в питательный раствор 1 мг/мл: **А** - ацетилсалициловой кислоты, **Б** – фенилаланина, **В** – бензойной кислоты, время экспозиции растений в растворе 24 и 48 часов

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. 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. 14В, рис. 12). 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 α -мууролен (рис. 14В). 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. 14А, Б). В вариантах с внесением ацетилсалициловой кислоты наибольшие пики соответствуют одним и тем же веществам: 3,5 – ДМТ, кариофиллен, лимонен и α -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 %), эвкалиптому (17,1 %) и 3,5-ДМТ (16,9 %). В варианте с 48-часовой экспозицией наибольшие пики соответствуют (в %) элемену (25,3), кариофиллену (16,9), 3,5-ДМТ (13,1) и лимонену (12,6).

При внесении в питательный раствор ацетилсалициловой кислоты в концентрации 2 мг/мл основными индивидуальными веществами в смеси ЛОС

спустя 24 с начала эксперимента были (%) - 3,5-диметокситолуол (29,9) > кариофиллен (18,5) > лимонен (15,9) > 1,3,5-триметоксибензол (9,0) > α -мууролен (7,4) > *n*-правиниланизол (6,0) (рис. 15).

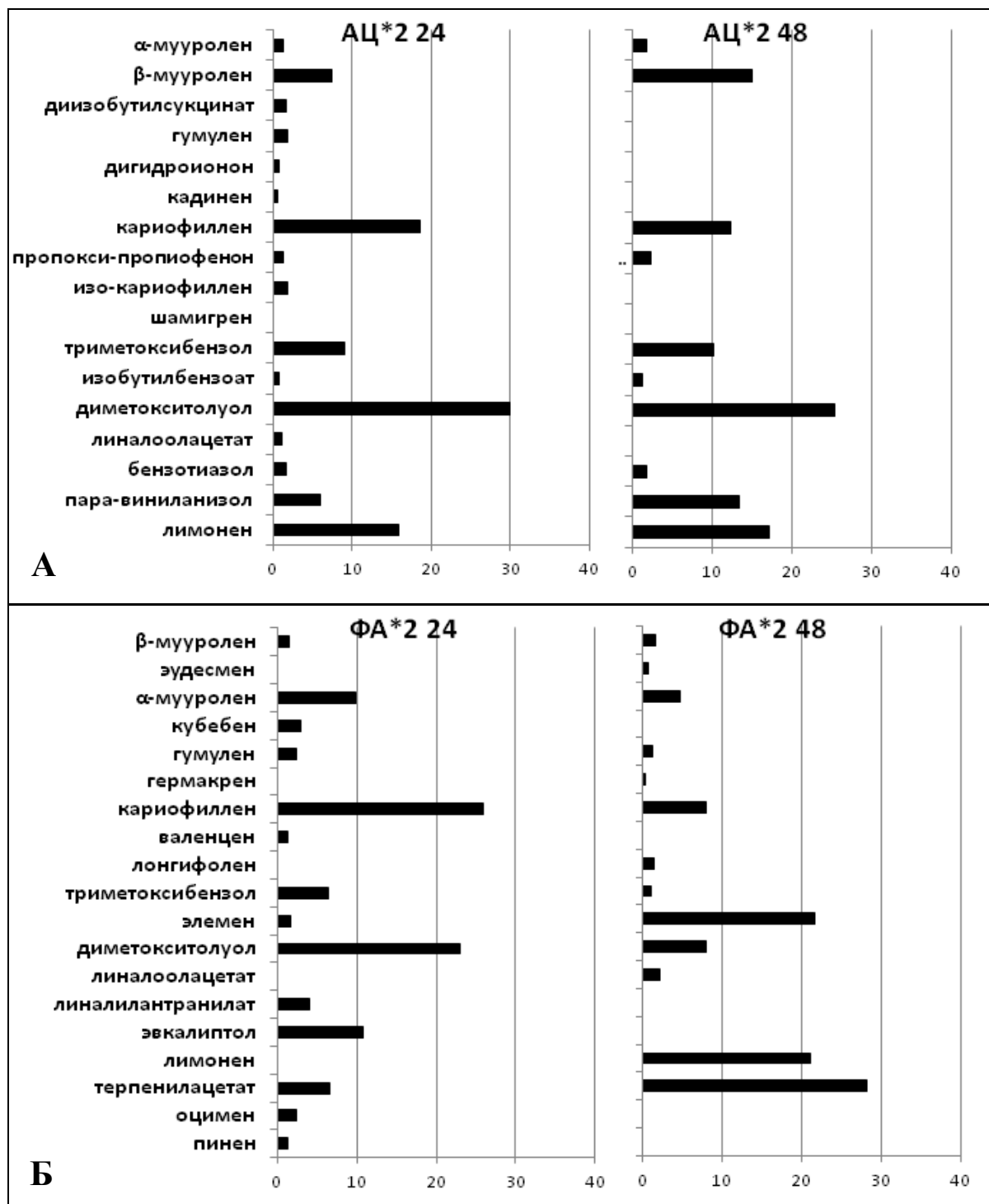


Рисунок 15. Компонентный состав аромата роз (%) при внесении в раствор 2 мг/мл: **А** - ацетилсалициловой кислоты, **Б** – фенилаланина, время экспозиции растений в растворе 24 и 48 часов

Спустя 48 часов при той же концентрации кислоты распределение выглядит следующим образом: 3,5-диметокситолуол (25,3) > лимонен (17,2) > α -мууролен

(14,9) > *n*-паравиниланизол (13,3) > кариофиллен (12,2) > 1,3,5-триметоксибензол (10,1). Таким образом, содержание основных характеристических компонентов аромата роз 3,5-ДМТ и 1,3,5-ТМБ с течением времени не изменяется при увеличении концентрации предшественника - ацетилсалициловой кислоты (рис. 15А), в отличие от изменений, связанных со временем экспозиции в растворе кислоты в концентрации 1 мг/мл. Стоит отметить, что структура основных пиков сохраняется с течением времени (рис. 15А), как было отмечено и для варианта с меньшей концентрацией предшественника (рис. 14А).

Основными индивидуальными веществами, идентифицированными в смеси ЛОС варианта с внесением 2 мг/мл фенилаланина спустя 24 часа были (%): кариофиллен (25,9) > 3,5-ДМТ (23,0) > эвкалиптол (10,8) > α -мууролен (9,8) > терпенилацетат (6,7) > 1,3,5-ТМБ (6,4); спустя 48 часов: терпенилацетат (28,2) > элемен (21,6) > лимонен (21,1) > кариофиллен (8,1) > 3,5-ДМТ (7,9) (табл.П.4). Сравнительный анализ представленных распределений показал, что содержание 3,5-ДМТ сокращается более чем в 3 раза, 1,3,5-ТМБ – более чем в 6 раз на вторые сутки эксперимента относительно первого измерения (рис. 15Б). Таким образом, увеличение концентрации фенилаланина не способствует сохранению в смеси ЛОС ароматических соединений с течением времени, несмотря на теоретическую схему биосинтеза (рис. 2). Вероятно, при увеличении концентрации аминокислоты до 2 мг/мл происходит подавление процессов биосинтеза в растении, и, нарушается цепочка синтеза конечных компонентов аромата.

3.3. 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. 16).

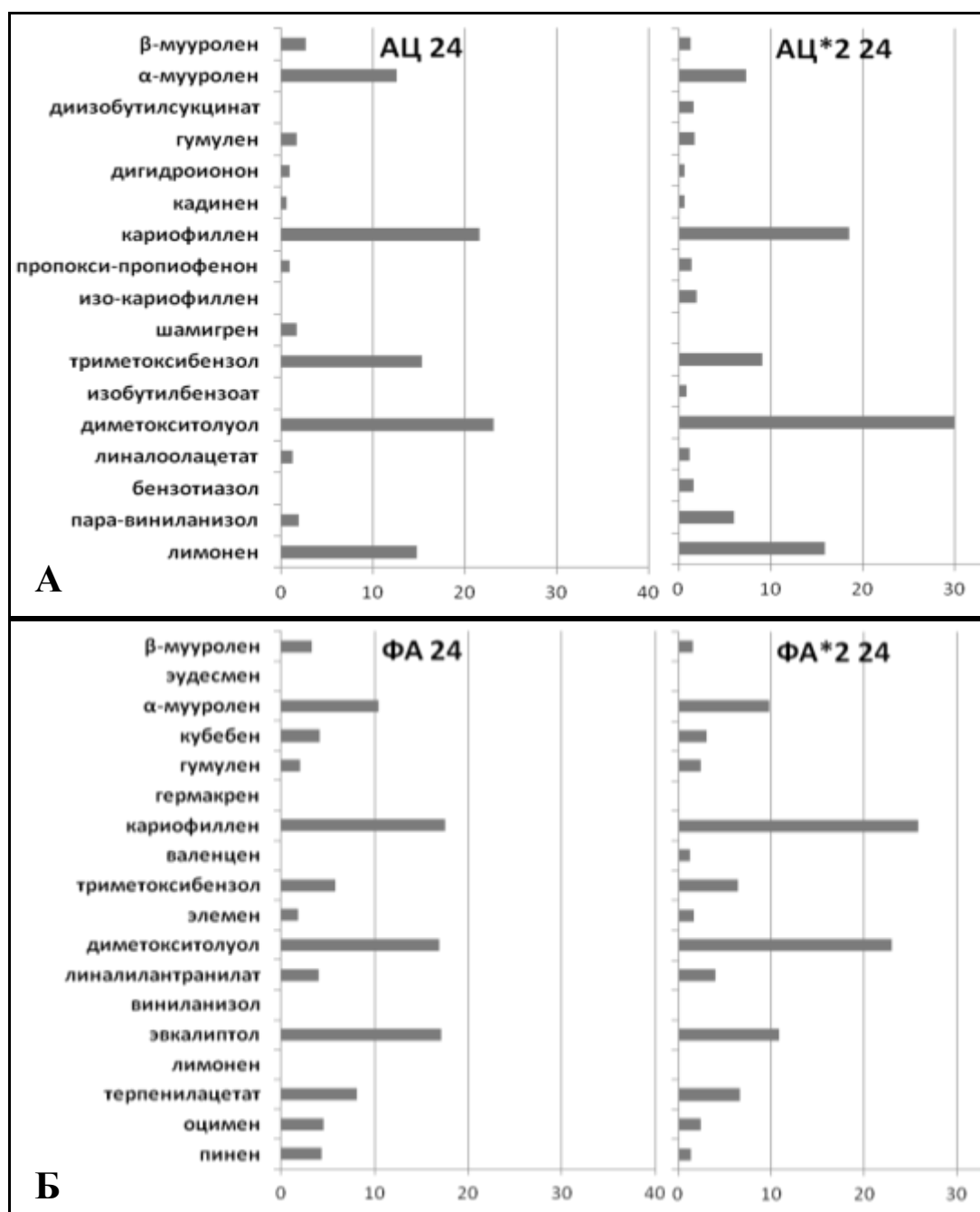


Рисунок 16. Компонентный состав аромата роз (%) в варианте с внесением 1 и 2 мг/мл А- ацетилсалициловой кислоты, Б- фенилаланина, время экспозиции 24 часа

Основными индивидуальными веществами, входящими в состав смеси компонентов аромата роз варианта с внесением ацетилсалициловой кислоты в концентрации 1 мг/мл являлись (в порядке убывания, %) 3,5-диметокситолуол (23,2) > кариофиллен (21,6) > 1,3,5-триметоксибензол (15,4) > лимонен (14,8) > α -мууролен (12,7). В варианте с внесением ацетилсалициловой кислоты в концентрации 2 мг/мл распределение основных пиков веществ по содержанию выглядит следующим образом (в порядке убывания, %): 3,5-диметокситолуол (29,9) > кариофиллен (18,5) > лимонен (15,9) > 1,3,5-триметоксибензол (9,0) > α -мууролен (7,4) > *n*-паравиниланизол (6,0) (табл.П.4, рис.16А).

Показано, что наибольшее содержание в варианте с ацетилсалициловой кислотой имеет 3,5-ДМТ, содержание которого значимо не изменяется при увеличении концентрации (рис.16А). 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 α - и β -мууроленов. 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. 17А).

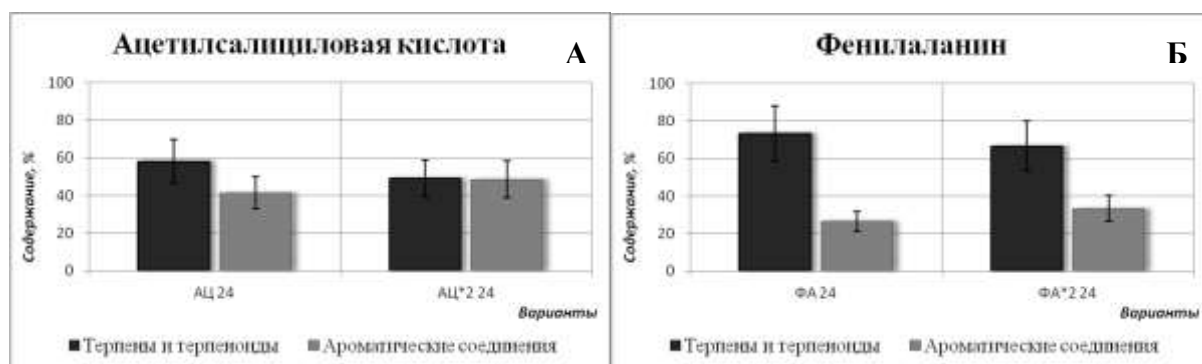


Рисунок 17. Содержание основных биохимических групп летучих органических соединений роз (%) в варианте с внесением 1 и 2 мг/мл А- ацетилсалициловой кислоты, Б- фенилаланина, время экспозиции 24 часа

В варианте с внесением в питательный раствор аминокислоты с ароматическим кольцом - фенилаланина - выделенные розой летучие вещества располагаются в следующий ряд по убыванию относительного содержания в смеси (%): кариофиллен (17,5) > эвкалиптол (17,1) > 3,5-диметокситолуол (16,9) > α -мууролен (10,4) > терпенилацетат (8,1) > триметоксибензол (5,8) – при концентрации 1 мг/мл; кариофиллен (25,9) > 3,5-диметокситолуол (23,0) > эвкалиптол (10,8) > α -мууролен (9,8) > терпенилацетат (6,7) > триметоксибензол (6,4) – при концентрации 2 мг/мл (рис. 16Б). 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 (табл.П.4). В составе смеси летучих компонентов преобладает группа терпенов и терпеноидов, при увеличении концентрации фенилаланина это соотношение сохраняется (рис. 17Б). 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 α -мууролен (рис.16А). Наибольшие пики в вариантах с концентрацией фенилаланина 1 и 2 мг/мл соответствуют одним и тем же соединениям: кариофиллен, 3,5-ДМТ, эвкалиптол, α -мууролен (рис.16Б). Количественное соотношение перечисленных компонентов также практически не изменяется (рис.16).

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.

При увеличении концентрации ацетилсалициловой кислоты с 1 до 2 мг/мл спустя 48 часов отмечено уменьшение общего количества идентифицированных летучих соединений роз (рис. 18А), в отличие от варианта с внесением фенилаланина, где оно остается неизменным (рис. 18Б).

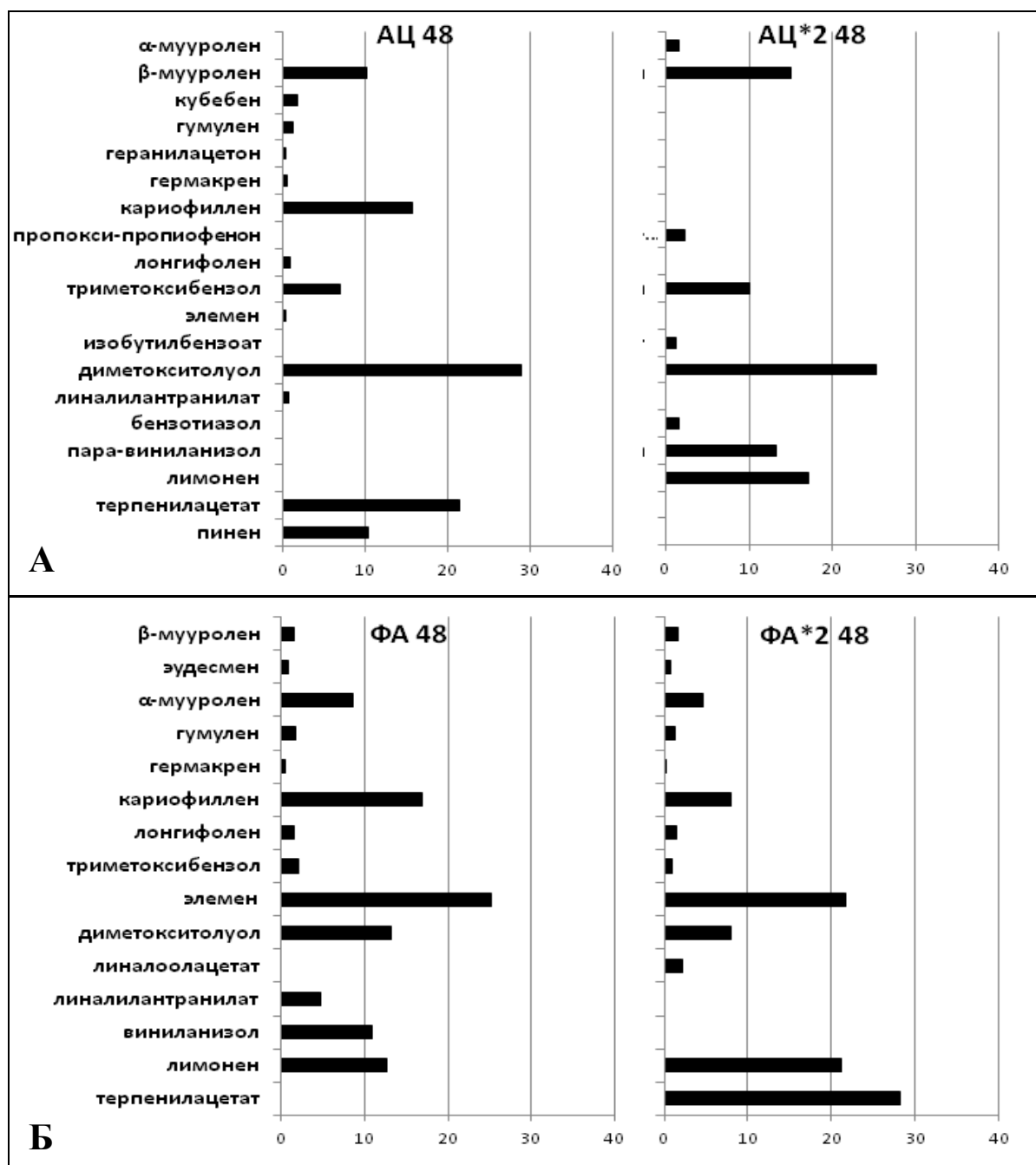


Рисунок 18. Компонентный состав аромата роз (%) в варианте с внесением в питательный раствор 1 и 2 мг/мл **А** - ацетилсалициловой кислоты, **Б**- фенилаланина, время экспозиции 48 часов

Основными индивидуальными веществами, входящими в состав смеси компонентов аромата роз варианта с внесением ацетилсалициловой кислоты в концентрации 1 мг/мл являлись (в порядке убывания, %) 3,5-диметокситолуол (28,9) > терпенилацетат (21,4) > кариофиллен (15,8) > пинен (10,3) > α-мууролен (10,2) > 1,3,5-триметоксибензол (7,1). В варианте с внесением ацетилсалициловой кислоты в концентрации 2 мг/мл распределение основных пиков веществ по содержанию выглядит следующим образом (в порядке убывания, %): 3,5-

диметокситолуол (25,3) > лимонен (17,2) > α -мууролен (14,9) > *n*-паравиниланизол (13,3) > кариофиллен (12,2) > 1,3,5-триметоксибензол (10,1) (табл.П.4, рис.18А). Содержание основных характеристических компонентов аромата роз – 3,5-ДМТ и 1,3,5-ТМБ значимо не изменяется при увеличении концентрации спустя 48 часов с начала эксперимента (табл. П.4).

Преобладающей группой соединений в варианте с внесением ацетилсалициловой кислоты в концентрации 1 мг/мл являются терпены и терпеноиды, тогда как при концентрации 2 мг/мл соотношение групп выравнивается (рис. 19А). Можно предположить, что происходит либо уменьшение синтеза терпеновых компонентов, либо увеличение синтеза ароматических. Но, принимая во внимание общее уменьшение идентифицированных компонентов, более вероятным является версия уменьшения синтеза терпенов и их производных, несмотря на увеличение концентрации предшественника. Это, возможно, свидетельствует об угнетении биосинтетических функций растений повышенной концентрацией кислоты спустя 48 часов с начала эксперимента при недостаточном количестве других необходимых для биосинтеза компонентов реакции.

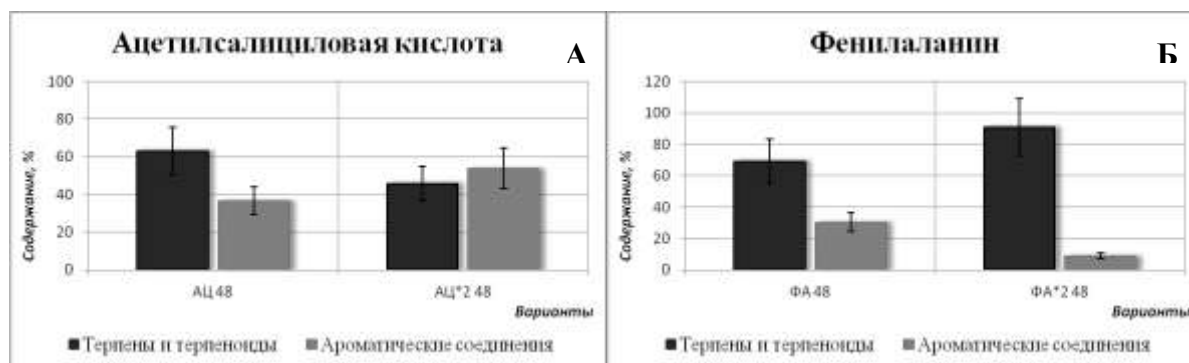


Рисунок 19. Содержание основных биохимических групп летучих органических соединений роз (%) в варианте с внесением 1 и 2 мг/мл А- ацетилсалициловой кислоты, Б- фенилаланина, время экспозиции 48 часов

В варианте с внесением 1 мг/мл фенилаланина спустя 48 часов основные компоненты смеси ЛОС располагаются в следующий ряд (%): элемен (25,3) > кариофиллен (16,9) > 3,5-ДМТ (13,1) > лимонен (12,6) > *n*-виниланизол (10,8) > α -мууролен (8,6). При внесении фенилаланина в концентрации 2 мг/мл распределение следующее: терпенилацетат (28,2) > элемен (21,6) > лимонен (21,1)

> кариофиллен (8,1) > 3,5-ДМТ (7,9) (табл.П.4). Содержание 3,5-ДМТ и 1,3,5-ТМБ в варианте с увеличенной концентрацией фенилаланина уменьшается (рис. 18Б). Наибольшим содержанием характеризуется группа терпенов и терпеноидов (рис. 19Б), при этом в варианте с 2 мг/мл фенилаланина разница в содержании групп максимальна. Это является признаком того, что при увеличении концентрации происходит уменьшение доли ароматических соединений в смеси ЛОС, несмотря на то, что фенилаланин является предшественником синтеза этих соединений. Возможно, на вторые сутки эксперимента начинается угнетение биохимических процессов в растении при внесении 2 мг/мл этого соединения.

В целом, выявить закономерности в изменении состава смеси летучих органических соединений роз в зависимости от исследуемых концентраций предшественника при экспозиции растений в растворе в течение 48 часов также не удалось.

* * *

Рассмотренные в разделах 3.1 - 3.3 результаты анализов показали, что применение полимерного сорбента Тенах для улавливания летучих соединений роз (см. раздел 2.3.1) позволяют идентифицировать большее количество соединений в образце, чем использование в качестве сорбента активированного угля (см. раздел 2.3.2). В первой серии экспериментов было идентифицировано более 50 органических соединений, относящихся к различным классам химических веществ (табл.П.2), тогда как общее количество компонентов, описанное во второй серии экспериментов, чуть более 30 (табл.П.4). Таким образом, использование первой методики улавливания компонентов аромата роз дает больше информации о составе изучаемой композиции, а следовательно, происходящих в нем изменениях. Это позволяет сделать вывод о целесообразности использования методики улавливания с использованием полимерного сорбента Тенах ТА для проведения исследований состава летучих органических выделений роз с помощью хромато-масс-спектрометрического метода анализа.

3.4. Органолептический анализ

Для оценки изменения целостного восприятия аромата был проведен органолептический анализ, а именно обонятельная оценка запаха роз различных вариантов опыта (концентрация предшественников во всех вариантах была 1 мг/мл). Для этого розы помещали в одинаковые сосуды по 5 стеблей в каждый с зашифрованной маркировкой варианта. Анализ проводился в условиях одинаковой освещенности при комнатной температуре. Участникам опроса предлагалось последовательно оценить интенсивность и приятность запаха роз всех вариантов по шкале от 1 до 4, где 1 соответствует самому слабому аромату, а также описать его (табл. П.5, П.6).

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 – контрольный вариант (рис. 20, табл. П.5).

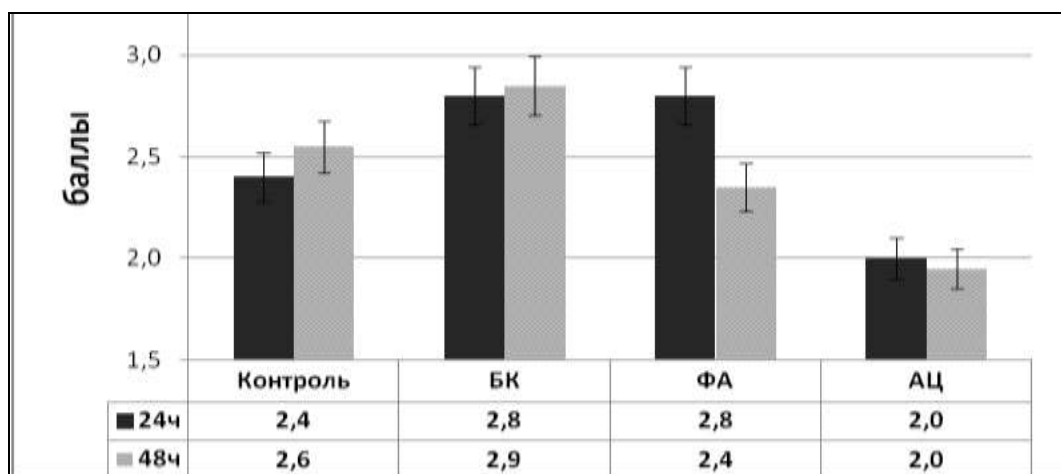


Рисунок 20. Оценка аромата роз контрольного варианта, вариантов с внесением бензойной, ацетилсалициловой кислот и фенилаланина (по 1 мг/мл) после 24 и 48 часов экспозиции в растворе, баллы

Наиболее приятный, розоподобный аромат, по результатам опроса, имеют розы, находившиеся в растворе с бензойной кислотой и фенилаланином. Стоит отметить, что запах роз варианта с внесением бензойной кислоты практически не ослабевает в течение суток (рис. 20), тогда как интенсивность аромата роз с фенилаланином на вторые сутки снижается. Внесение ацетилсалициловой

кислоты дает низкие показатели по восприятию аромата (интенсивность и приятность), как на первые сутки, так и на вторые.

В ходе второго анализа испытатели оценивали 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 (рис. 21, табл.П.6).

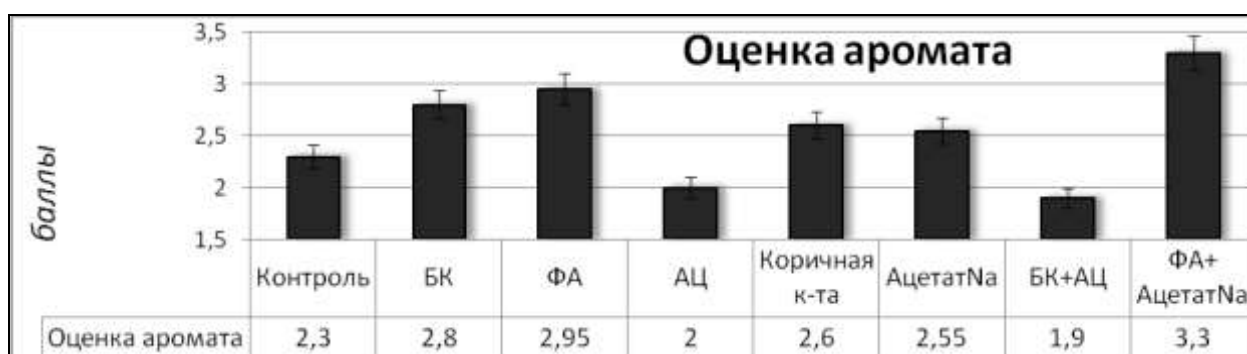


Рисунок 21. Изменение восприятие аромата роз в зависимости от химического состава внесенной в питательный раствор добавки, баллы

Наиболее приятный розоподобный аромат, по результатам анализа, имеют розы, находившиеся в растворе со смесью фенилаланина и ацетата натрия (3,3 балла). На втором месте по интенсивности и приятности восприятия аромата находятся варианты с внесением бензойной кислоты и фенилаланина, что согласуется с результатами первого анализа (табл.П.5). Розы варианта с внесением коричной кислоты также обладали интенсивным ароматом, однако, с химическим «лекарственным» оттенком. Розы варианта с внесением ацетата натрия имели характерный «розовый» аромат, но низкой интенсивности. Аромат роз, находившихся в растворах со смесью бензойной и ацетилсалициловой кислот, и ацетилсалициловой кислотой отдельно, был слабым, имел кисловатый оттенок, и не был отмечен как приятный (рис. 21), что согласуется с результатами первой серии испытаний для варианта с внесением ацетилсалициловой кислоты (табл.П.5).

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 (см. раздел 2.2.1) и соотношение основных биохимических групп соединений разных вариантов (рис. 4). 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. 21, 22).

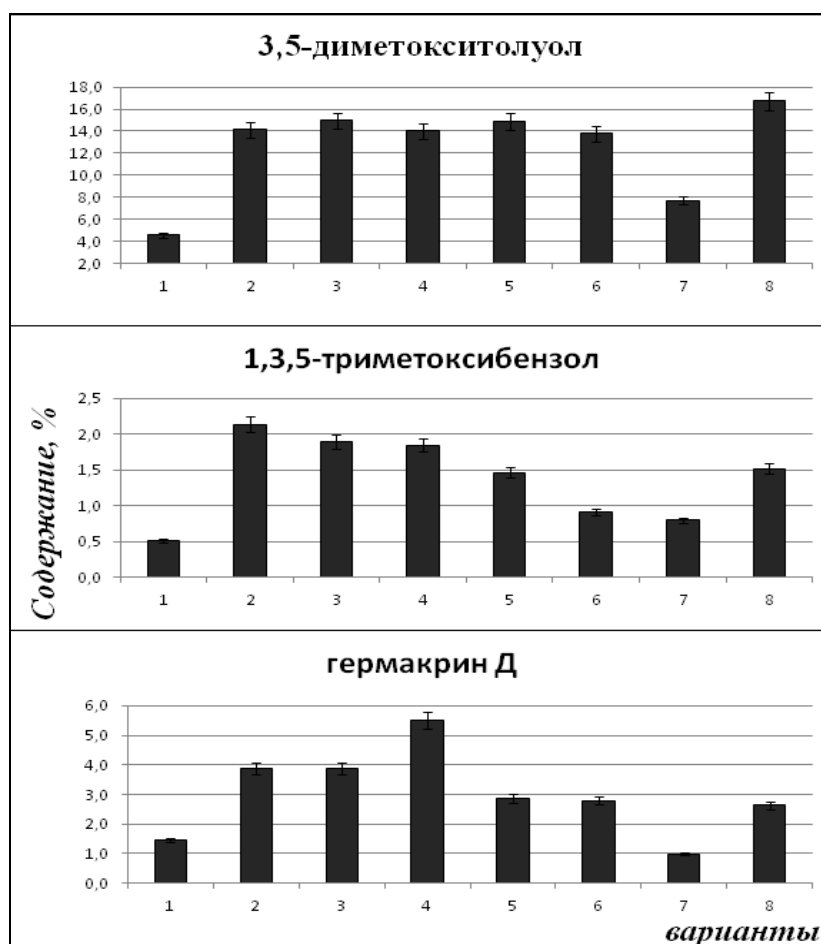


Рисунок 22. Содержание основных характеристических компонентов аромата роз вариантов: 1 - контроль, 2 - бензойная кислот, 3 - фенилаланин, 4 - ацетилсалициловая кислота, 5 - коричная кислота, 6 - ацетат натрия, 7 - смесь бензойной и ацетилсалициловой кислот, 8 - смесь фенилаланина с ацетатом натрия

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. 22).

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. 4). В то же время оценки аромата, полученные розами этих вариантов, заметно различаются (табл.П.6). 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 относительного 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 гермакрин 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 ИСПОЛЬЗОВАННОЙ ЛИТЕРАТУРЫ

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. Балковая, Е.Н. Физиолого-биохимическая характеристика эфирно-масличных растений / Е.Н. Балковая. – Днепропетровск : «Днепропетровский государственный университет», 1958. - 184 с.
5. Братус, И.Н. Химия душистых веществ / И.Н. Братус. - М. : Агропромиздат, 1992. - 240 с.
6. Виноградов, Б. Ароматерапия : учеб. курс / Б. Виноградов, Н. Виноградова, Л. Голан. - Fultus Books, 2006. - 219 с.
7. Войткевич, С.А. 865 Душистых веществ для парфюмерии и бытовой химии / С.А. Войткевич. М. : Пищевая промышленность, 1994. 594 с.
8. Войткевич, С.А. Эфирные масла для парфюмерии и ароматерапии / С.А. Войткевич. М. : Пищевая промышленность, 1999. 329 с.
9. Вторичные метаболиты растений: физиологические и биохимические аспекты : учеб. пособие в 3 ч. Ч. 3. Фенольные соединения / А.И. Валиева, Й.Р. Абдрахимова. - Казань: Казанский Федеральный университет, 2010. - 40 с.
10. Выращивание растений без почвы / В.А. Чесноков, Е.Н. Базырина, Т.М. Бушуева, Н.Л. Ильинская. - Л. : Изд-во Ленинградского университета, 1960. - 169 с.

11. ГОСТ Р 53159-2008 РФ, ИСО 4120:2004. Органолептический анализ. Метод треугольника. - М. : Стандарт-информ, 2009. - 19 с.
12. Государственная Фармакопея СССР. – Изд. XI. – 1987. – Вып. 1. - 287 с.
13. Даффус, К. Углеводный обмен растений / К. Даффус, Дж. Даффус. - М. : Агропромиздат, 1987. - 176 с.
14. Ефремов, А.А. Метод исчерпывающей гидропародистилляции при получении эфирных масел дикорастущих растений / А.А. Ефремов // Успехи современного естествознания. - 2013. - №7. - С. 88-94.
15. Жученко, А.А. Средоулучшающие фитотехнологии в северных мегаполисах / А.А. Жученко, А.И. Труханов. - М. : Красанд, 2009. - 192 с.
16. Изменение состава эфирного масла при разных сроках хранения сырья / А.В. Ткачев, Е.А. Королук, М.С. Юсубов, А.М. Гурьев // Химия растительного сырья. - 2002. - № 1. - С. 19–30.
17. Калугина, И.Ю. Химия природных соединений : учеб. пособие / И.Ю. Калугина. – Екатеринбург : УГЭУ, 2007. -116 с.
18. Каспаров, Г.Н. Основы производства парфюмерии и косметики / Г.Н. Каспаров. - М. : Агропромиздат, 1988. - 287 с.
19. Красильникова, Л.А. Биохимия растений : учеб. пособие / Л.А. Красильникова. - Ростов н/Д : Феникс, 2004. - 224 с.
20. Кретович, В.Л. Биохимия растений : учеб. пособие / В.Л. Кретович. - М. : Высшая школа, 1986. - 503 с.
21. Кудряшова, Л.В. Ароматерапия : теория и практика. - Тверь : Герс, 2010. - 464 с.
22. Малиновский, В.И. Физиология растений: учеб. пособие / В.И. Малиновский. – Владивосток : ДВГУ, 2004. - 106 с.
23. 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.

24. Махлаюк, В.П. Лекарственные растения в народной медицине / В.П. Малюк. – Саратов : Приволжское кн. изд-во, 1992. - 544 с.

25. Мельникова, Л.Б. История создания прибора, идентифицирующего запахи – «электронного носа» / Л.Б. Мельникова // Вестник РГАЗУ. - 2008. - №.3 - [http://www.rgazu.ru/db/vestnic/2008\(3\)/zooingeneriya/05.htm](http://www.rgazu.ru/db/vestnic/2008(3)/zooingeneriya/05.htm).

26. МУК 4.1.618-96. Методические указания по хромато-масс-спектрометрическому определению летучих органических веществ в атмосферном воздухе. – Введ. 1996-10-31. – М. - 1996.

27. Осипов, Г.А. Изучение летучих веществ в природной и питьевой воде, обуславливающих ее запахи, и причины их возникновения / Г.А. Осипов, Н.П. Кузьмина, Д.Г. Осипов // Проекты развития инфраструктуры города. - М. : Прима-Пресс-М, 2001. - Вып.1. - С. 41-46.

28. Основы органической химии душистых веществ для прикладной эстетики и ароматерапии : учеб. пособие для вузов ; под ред. А.Т. Солдатенкова. - М. : ИКЦ «Академкнига», 2006. - 240 с.

29. Практикум по агрохимии ; под ред. В.Г. Минеева. - М. : МГУ, 2001. - 689 с.

30. Райт, Р.Х. Наука о запахе / Р.Х. Райт ; перевод с англ. Л.Г. Булавина, Т.А. Никольская. - М. : Мир, 1966. - 224 с.

31. Самылина, И.А. Фармакогнозия : атлас. Том 2. Лекарственное растительное сырье. Анатомодиагностические признаки фармакопейного и нефармакопейного лекарственного растительного сырья / И.А. Самылина, О.Г. Аносова. - М. : ГЭОТАР-Медиа, 2007. - 384 с.

32. Стикс, В. В царстве запахов: эфирные масла и их действие / В. Стикс, У. Вайгершторфер. - М. : Навеус, 2002. -144с.

33. Сухая, О.В. Оптимизация условий питания черенков роз при их укоренении : дис. ... канд. биол. наук : 06.01.04 / Сухая О.В. - М., 2009. -120 с.

34. Танасиенко, Ф.С. Эфирные масла. Содержание и состав в растениях / Ф.С. Танасиенко. – Киев : Наукова Думка, 1985. - 264 с.

35. Технология натуральных эфирных масел и синтетических душистых веществ / И.И. Сидоров, Н.А. Турышева, Л.П. Фалеева, Е.И. Ясюкевич. - М. : Легкая и пищевая пром-сть, 1984. - 368с.
36. Ткачев, А.В. Исследование летучих веществ растений / А.В. Ткачев. - Новосибирск : «Офсет», 2008. - 969 с.
37. Физиология растений : учеб. пособие для вузов / Н.Д. Алехина [и др.] ; под общ. ред. И.П. Ермакова. - М. : Академия, 2005. - 640 с.
38. Хейфиц, Л.А. Душистые вещества и другие продукты для парфюмерии / Л.А. Хейфиц, В.М. Дашунин. - М. : Химия, 1994. - 256 с.
39. Хелдт, Г.В. Биохимия растений / Г.В. Хелдт. - М. : Бином, 2011. - 471с.
40. ЭСБЕ. Том 33. Терпены и их производные ; под ред. К. К. Арсеньева, Ф. Ф. Петрушевского. - СПб. : Семеновская Типолитография, 1901. - С. 44-59.
41. Aharoni, A. Volatile science – Metabolic engineering of terpenoids in plants / Aharoni A., Jongsma M., Bouwmeester H. // TRENDS PLANT SCI. - 2005. - Vol. 10, № 12. - P. 594-602.
42. Aharoni, A. Metabolic Engineering of Terpenoid Biosynthesis in Plants / A. Aharoni [et al.] // Phytochemistry Reviews. - 2006. - Vol. 5, № 1. - P. 49-58.
43. Antonelli, A. Characterization of 24 old garden roses from their volatile compositions / Antonelli A., Fabbri C., Giogioni M.E., Bazzocchi R. // J. Agric. Food Chem. - 1997. - Vol. 45. - P. 4435-4439.
44. Augusto, F. Sampling and sample preparation for analysis of aromas and fragrances / Augusto F., Leite-e-Lopes A., Zini C.A. // Trends in Analytical Chemistry. - 2003. - Vol. 22, № 3. - P. 160-169.
45. Baldermann, S. Volatile constituents in the scent of roses / Baldermann S., Yang Z., Miwa S., Peter F., Naoharu W. // Floriculture and ornamental biotechnology. - 2009. - Vol.3, №1. - P.89-97.
46. Baldwin, I.T. Plant volatiles / Baldwin I.T. // Current Biology. - 2010. - Vol.20, №9. - P. 392-397.
47. Baldwin, I.T. Volatile Signaling in Plant-Plant Interactions: «Talking Trees» in the Genomics Era / Baldwin I.T. [et al.] // Science. - 2006. - Vol. 311. - P. 812-815.

48. Barletta, A. Scent makes a comeback / Barletta A. // *Floraculture*. - 1995. - №5. - P. 23–25.
49. Bauer, K. Common Fragrance and Flavor Materials: preparation, properties, and uses / Bauer K., Garbe D., Surburg H. - Wiley-VCH, Weinheim, 2001. – 293 p.
50. Baydar, H. The effects of harvest date, fermentation duration and Tween 20 treatment on essential oil content and composition of industrial oil rose (*Rosa damascena* Mill.) / Baydar H., Baydar N.G. // *Industrial Crops and Products*. - 2005. - Vol. 21, № 2. - P. 251-255.
51. Bayrak, A. Volatile oil composition of Turkish rose (*Rosa damascena*) / Bayrak A., Akgul A. // *Journal of The Science of Food and Agriculture*. - 1994. - Vol. 64, № 4. - P. 441-448.
52. Ben Zvi M. Interlinking showy traits: co-engineering of scent and colour biosynthesis in flowers / Ben Zvi M. [et al.] // *Plant biotechnology journal*. - 2008. - Vol. 6. - P. 403-415.
53. Biology of Floral Scent ; ed. Dudareva N., Pichersky E. – FL : Taylor&Francis Group, 2006. - 365p.
54. Blom, T.J. Cut rose production / Blom T.J., Tsujita M.J. // *Encyclopedia of rose science* / A.V. Roberts, T. Debener, and S. Gudin. – Oxford : Elsevier, 2003. - Vol. 1–3. - P. 594–600.
55. Borda, A.M. Effects of ethylene on volatile emission and fragrance in cut roses: The relationship between fragrance and vase life / Borda A.M. [et al.] // *Postharvest Biology and Technology*. - 2011. - Vol. 59. - P. 245–252.
56. Bouvier, F. Biogenesis, molecular regulation and function of plant isoprenoids / Bouvier F., Rahier A., Camara B. // *Progress in Lipid Research*. - 2005. - Vol.44, №6. - P. 357-429.
57. Broun, P. Progress in plant metabolic engineering / Broun P., Sommerville C. // *Proc Natl Acad Sci USA*. - 2001. - Vol. 98. - P. 8925-8927.
58. Brown, K. Something to sniff at: unbotting floral scent / K. Brown // *Science*. - 2002. - Vol. 296, №. 5577. - P. 2329.

59. Brunke, E.J. Scent of roses – recent results / Brunke E.J., Hammerschmidt F.J., Schmaus G. // *Flavour and fragrance journal*. - 1992. - Vol. 7. - P. 195-198.
60. Burdock, G.A. *Fenaroli's Handbook of Flavor Ingredient* / G.A. Burdock. - Boca Raton, FL. : CRC Press. - Ed 5. - 2010. - 1864p.
61. Cairns, T. Classification. Horticultural classification schemes / T. Cairns // *Encyclopedia of rose science* / A.V. Roberts, T. Debener, S. Gudin. – Oxford : Elsevier, 2003. –P. 117-124.
62. Caissard, J.C. Chemical and histochemical analysis of Quatre Saisons Blanc Mousseux a Moss rose of the *Rosa x damascene* group / Caissard J.C. [et al.] // *Ann. Bot.* - 2005. - Vol. 97. - P. 231-238.
63. Capell, T. Progress in plant metabolic engineering / Capell T., Christou P. // *Current Opinion in Biotechnology*. - 2004. - Vol.15, № 2. – P. 148–154.
64. Carnesecchi, S. Geraniol, a component of plant essential oils, inhibits growth and polyamine biosynthesis in human colon cancer cells / Carnesecchi S. [et al.] // *The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*. - 2001. - Vol. 298, № 1. - P. 197-200.
65. Castro, R. Application of solid phase extraction techniques to analyse volatile compounds in wines and other enological products / Castro R., Natera R., Duran E., Garsia-Barroso C. // *European Food Research and Technology*. - 2008.- Vol. 228, № 1. - P. 1-18.
66. Chaanin, A. Breeding/Selection strategies for cut roses / Chaanin A. // *Encyclopedia of rose science* / A.V. Roberts, T. Debener, S. Gudin. – Oxford : Elsevier, 2003. - P. 33-41.
67. Chandler, S. Genetic Modification in Floriculture / Chandler S., Tanaka Y. // *Critical Reviews in Plant Sciences*. - 2007. - Vol. 26, № 4. - P. 169-197.
68. Chappell, J. The genetics and molecular genetics of terpene and sterol origami / Chappell J. // *Curr Opin Plant Biol.* - 2002. - Vol. 5, № 2. - P. 151-157.
69. Chen, F. Biosynthesis and emission of volatiles from *Arabidopsis* flowers / Chen F. [et al.] // *Plant Cell*.- 2003. - Vol.15, № 2. - P. 481-494.

70. Croteau, R. Biosynthesis and catabolism of monoterpenoids / Croteau R. // CHEM REV. - 1987. - Vol. 87, №5. - P. 929-954.
71. Croteau, R. Origin of natural odorants / Croteau R., Karp F. // Perfumes : art, science and technology / Muller P.M. and Lamparsky D. – London : Elsevier Applied Science, 1991. - P. 101-126.
72. Croteau, R. Biochemistry and Molecular Biology of Plants / Croteau R., Kutchan T.M., Lewis N.G // American Society of Plant Physiologists. - Rockville, MD. - 2000. - P. 1250–1318.
73. Croteau, R. Strategies for transgenic manipulation of monoterpene biosynthesis in plants / Croteau R., Mahmoud S. // TRENDS PLANT SCI. - 2002. - Vol. 7, № 8. - P. 366-373.
74. Croteau, R. Genetic engineering of peppermint for improved essential oil composition and yield / Croteau R., Wildung M. // TRANSGENIC RES. - 2005. - Vol. 14, № 4. - P. 365-372.
75. Curry, K.J. Initiation of terpenoid synthesis in osmophores of *Stanhopea anfracta* (Orchidaceae): a cytochemical study / Curry K.J. // Am. J. Bot. - 1987. - Vol. 74. - P. 1332-1338.
76. D'Auria, J.C. Characterization of an acyltransferase capable of synthesizing benzylbenzoate and other volatile esters in flowers and damaged leaves of *Clarkia breweri* / D'Auria J.C., Chen F., Pichersky E. // Plant Physiol. - 2002. - Vol.130, №1. - P. 466-476.
77. Davies, K.M. Plant colour and fragrance / Davies K.M. // Metabolic Engineering of Plant Secondary Metabolism / Verpoorte R, Alfermann AW. – Dordrecht : Kluwer Academic Publishers, 2000. - P. 127-164.
78. De Preville. Natural products in fragrance / De Preville // Perf. Flav. - 2006. - Vol. 31. - P. 36–38.
79. Debener, Th. Exploring complex ornamental genomes: the rose as a model plant / Debener Th., Linde M. // Critical reviews in plant science. - 2009. - Vol. 28, №4. - P. 267-280.

80. Degenhardt, J. Monoterpene and sesquiterpene synthases and the origin of terpene skeletal diversity in plants / Degenhardt J., Kollner T., Gershenzon J. // *Phytochemistry*. - 2009. - Vol. 70. - P. 1621-1637.
81. DellaPenna, D. Plant metabolic engineering / DellaPenna D. // *Plant Physiol.* - 2001. - Vol. 125. - P. 160-163.
82. Derks, F.H.M. Prolongation of vase life of cut roses via introduction of genes coding for antibacterial activity. Somatic embryogenesis and *Agrobacterium*-mediated transformation / Derks F.H.M. [et al.] // *Acta Hort.* - 1995. - Vol. 405. - P.205-209.
83. Dixon, R.A. Engineering of plant natural product pathways / Dixon R.A. // *Current opinion in Plant biology*. - 2005. - Vol.8, №3. - P.329-336.
84. Dixon, R.A. Natural products and plant disease resistance / Dixon R.A. // *Nature*. - 2001. - Vol.411. - P.843-847.
85. Dravnieks, A. Principles and some techniques of high-resolution headspace analysis / Dravnieks A., O'Donnell A. // *J. Agr. Food Chem.* - 1971. - Vol. 19, № 6. - P. 1049-1056.
86. Dudareva, N. Biosynthesis, function and metabolic engineering of plant volatile organic compounds / Dudareva N., Klempien A., Muhlemann J.K., Kaplan I. // *New Phytologist*. - 2013. - Vol.198, №1. - P.16-32.
87. Dudareva, N. Practical applications of research into the regulation of plant volatile emission / Dudareva N., Negre F. // *Current Opinion in Plant Biology*. - 2005. - Vol. 8. - P. 113–118.
88. Dudareva, N. Plant Volatiles: Recent Advances and Future Perspectives / Dudareva N., Negre F., Nagegowda D., Orlova I. // *Critical Reviews in Plant Sciences*. - 2006. - Vol. 25, № 5. - P.417-440.
89. Dudareva, N. Biochemical and Molecular Genetic Aspects of Floral Scents / Dudareva N., Pichersky E. // *J Plant Physiology*. - 2000. - Vol. 122. - P.627-633.
90. Dudareva, N. Biochemistry of plant volatiles / Dudareva N., Pichersky E., Gershenzon J. // *Plant Physiology*. - 2004. - Vol. 135. - P.1893-1902.
91. Filiberti, D. The charm of China roses / Filiberti D. // *American Rose*. - 2001. - Vol. 36, № 7. - P. 32-34.

92. Flament, I. Volatiles constituents of roses: characterization of cultivars based on the headspace analysis of living flower emission / Flament I., Debonneville C., Furrer A. // *Bioactive Volatile Compounds from Plants*. - Washington, DC : American Chemical Society, 1993. - P. 269-281.
93. Flamini, G. Volatiles emission patterns of different plant organs and pollen of *Citrus limon* / Flamini G., Tebano M., Cioni P.L. // *Anal. Chim. Acta*. - 2007. - Vol. 589. - P. 120-124.
94. Folta, K.M. Genetics and Genomics of *Rosaceae* / Folta K.M., Gardiner S.E. - New York: Springer, 2009. – 636 p.
95. Fragrance Chemistry: The Science of the Sense of Smell / Ed. Theimer E.T. - New York : Academic Press, 1982. - P. 635.
96. Frater, G. Fragrance Chemistry / Frater G., Bajgrowicz J.A., Kraft F. // *Tetrahedron*. - 1998. - Vol. 54, № 27. - P. 7633-7703.
97. Garzón, P.C. Plants: Adaptive behavior, root-brains, and minimal cognition / Garzón P.C., Keijzer F. // *Adaptive Behavior*. - 2011. - Vol. 19, № 3. - P. 155-171.
98. Gershenzon, J. Biochemistry of terpenoids: monoterpenes, sesquiterpenes, diterpenes, sterols, cardiac glycosides and steroid saponins / Gershenzon J., Kreis W. // *Biochemistry of Plant Secondary Metabolism* / Wink M. - Sheffield : Sheffield Academic Press, 1999. – P. 222.
99. Goff, S. Plant volatile compounds: Sensory cues for health and nutritional value / Goff S.A., Klee H.J. // *Science*. - 2006. - Vol. 311. - P. 815-819.
100. Guoliang, W. History of roses in cultivation : Ancient Chinese roses / Guoliang W. // *Encyclopedia of rose science* / A.V. Roberts, T. Debener, and S. Gudin. Oxford : Elsevier, 2003. - P. 387–395.
101. Guterman, I. Rose scent: genomics approach to discovering novel floral fragrance-related genes / Guterman I. [et al.] // *The Plant Cell*. - 2002. - Vol.14. - P. 2325-2338.
102. Halevy, A.H. Rose research- current situation and future needs / Halevy A.H. // *Acta Hort*. - 1986. - Vol. 189. - P. 11-20.

103. Hamberg, M. α -Oxidation of fatty acids in higher plants / Hamberg M., Sanz A., Castresana C. // J. Biol. Chem. - 1999. - Vol.274. - P. 24503-24513.
104. Harborne, J. Twenty-five years of chemical ecology / Harborne J // Nat Prod Rep. - 2001. - Vol. 18. - P. 361-379.
105. Hatterschide, B. Fragrance in Roses / Hatterschide B. // American Rose Society. – L.A. - 1995. – www.ars.org.
106. Helsper, J. Circadian rhythmicity in emission of volatile compounds by flowers of *Rosa hybrida* L. cv. Honesty / Helsper J., Davies J., Bouwmeester H., Krol A., van Kampen M. // Planta. - 1998. - Vol. 207. - P. 88-95.
107. Jacobsen, H.B. Influence of climatic factors on emission of flower volatiles in situ / Jacobsen H.B., Olsen C.E. // Planta. - 1994. - Vol. 192, № 3. - P. 365-371.
108. Jaime, A.. Mining the essential oils of the *Anthemideae* / Jaime A., Teixeira da Silva // African Journal of Biotechnology. - 2004. - Vol. 3, № 12. - P. 706-720.
109. Joichi, A. Volatile components of tea-scented modern roses and ancient Chinese roses / Joichi A., Yomogida K., Awano K., Ueda Y. // Flavour Frag J. - 2005. - Vol. 20, №2. - P. 152-157.
110. Joyeaux, F. History of roses in cultivation/European : pre-1800 / Joyeaux F. // Encyclopedia of rose science / A.V. Roberts, T. Debener, S. Gudin. – Oxford : Elsevier, 2003. - P. 387–395.
111. Julien, D. Defining modern roses / Julien D. // American Rose. - 2004. - Vol. 38, №18. - P. 22-27.
112. Kaiser, R. Vanishing Flora - Lost Chemistry: The Scents of Endangered Plants around the World / Kaiser R. // CHEMISTRY & BIODIVERSITY. - 2004. - Vol. 1. - P. 13-27.
113. Kessler, A. Defensive Function of Herbivore-Induced Plant Volatile Emissions in Nature / Kessler A., Baldwin I.T. // Science. - 2001. - Vol. 291, № 5511. - P. 2141-2144.
114. Knudsen, J. Floral scents – a checklist of volatile compounds isolated head-space techniques / Knudsen J. T., Tollsten L., Bergstrom G. // Phytochemistry. - 1993. - Vol. 33, No. 2. - P. 253-280.

115. Knudsen, J. T. Diversity and distribution of floral scent / Knudsen J. T., Eriksson R., Gershenzon J., Ståhl B. // Botanical Review. - 2006. - Vol. 72, № 1. - P. 1-120.
116. Koroch, A. Bioactivity of essential oils and their components / Koroch A., Juliani H.R., Zygadlo J.A. // Flavor and fragrances. – Berlin : Springer, 2007. - P. 87–115.
117. Krüssmann, G. Roses / Krüssmann G.. – London : Batsford, 1982. – 436 p.
118. Lange, B.M. Isoprenoid biosynthesis: The evolution of two ancient and distinct pathways across genomes / Lange B.M., Rujan T., Martin W., Croteau R. // PNAS. - 2000. - Vol. 97, № 24. - P. 13172-13177.
119. Lavid, N. Methyltransferases Involved in the Biosynthesis of Volatile Phenolic Derivatives in Rose Petals / Lavid N. [et al.] // Plant Physiology. - 2002. - Vol.129, №3. - P.1899-1907.
120. Leffingwell, J.C. Olfaction – Update No. 5 / Leffingwell J.C. - Leffingwell Reports - 2002. - Vol. 2, № 1. - P.1-34.
121. Leffingwell, J.C. Rose (*Rosa Damascena*) / John C. Leffingwell - <http://www.leffingwell.com/rose.htm>.
122. Lewinsohn, E. Phytochemical diversity: the sounds of silent metabolism / Lewinsohn E., Gijzen M. // Plant Science. - 2009. - Vol.176. - P. 161-169.
123. Lewinsohn, E. Enhanced levels of the aroma and flavor compound S-linalool by metabolic engineering of the terpenoid pathway in tomato fruits / Lewinsohn E. // J Plant Physiol. - 2001. - Vol.127, №3. - P.1256-1265.
124. Lückner, J. Metabolic engineering of terpenoid biosynthesis in plants / Lückner J., Bouwmeester H.J., Aharoni A. // Applications of Plant Metabolic Engineering. - 2007. - P.219-236.
125. Machmudah, S. Extraction of *Nigella saliva* L. using supercritical CO₂: A study of antioxidant activity of the extra / Machmudah S. [et al.] // Separation Science and technology. - 2005. - Vol. 40. - P. 1267-1275.
126. Maffei, M.E. Sites of synthesis, biochemistry and functional role of plant volatiles / Maffei M.E. // South African Journal of Botany. - 2010. - Vol.76, № 4. - P. 612–631.

127. Mahmoud, S.S. Strategies for transgenic manipulation monoterpene biosynthesis in plants / Mahmoud S.S, Croteau R. // TRENDS in Plant Science. - 2002. - Vol. 7, № 8. - P. 366-373.
128. Marongiu, B. Comparative analysis of the oil and supercritical CO₂ extract of *Ridolfia segetum* (L.) Moris / Marongiu B. [et al.] // Natural Product Research. - 2007. - Vol. 21, № 5. - P. 412-417.
129. Marriott, P.J. Gas chromatographic technologies for the analysis of essential oils / Marriott P.J., Shellie R., Cornwell C. // Journal of Chromatography A. - 2001. - Vol. 936. - P.1-22.
130. McGarvey, D.J. Terpenoid metabolism / McGarvey D.J., Croteau R. // Plant Cell. - 1995. - № 7. - P. 1015-1026.
131. Mookherjee, B.D. The chemistry of flowers, fruits and spices: live vs. dead a new dimension in fragrance research / Mookherjee B.D., Trenkle R.W., Wilson R.A. // Pure & Appl. Chem. - 1990. - Vol. 62, № 7. - P. 1357-1364.
132. Mostafavi, A. Chemical composition of the essential oils of *Rosa damascene* from two different locations in Iran / Mostafavi A., Afzali D. // Chemistry of Natural Compounds. - 2009. - Vol. 45, № 1. - P. 110-113.
133. Mouchotte, J. Fragrance of modern roses gets lost in the production process / Mouchotte J. // FlowerTECH. - 2001. - Vol.4, №2. - P.12-13.
134. Muller, R. Comparison of postharvest properties of closely related miniature rose cultivars (*Rosa hybrida* L.) / Muller R., Stummann B.M., Anderson A.S. // Sci Hort. - 2001. - Vol. 91. - P. 325-338.
135. Negre-Zakharov, F. Floral Scents and Fruit Aromas Inspired by Nature / Negre-Zakharov F., Long M.C., Dudareva N. // Plant-derived Natural Products. – NY : Springer. - 2009. – P. 405-431.
136. Niinemets, U. Physiological and physicochemical controls on foliar volatile organic compound emissions / Niinemets U., Loreto F., Reichstein M. // TRENDS in Plant Science. - 2004. - Vol.9, №.4. - P. 180-186.
137. Ohloff, G. Scent and Fragrances: The Fascination of Odors and Their Chemical Perspectives / Ohloff G. - New York : Springer, 1994. - ISBN 0-387-57108-6.

138. Olson, J. Growing Roses in Cold Climates / Olson J, and Whitman J. - Chicago, Illinois : Contemporary Books, 1998.
139. Pichersky, E. Scent engineering: toward the goal of controlling how flowers smell / Pichersky E., Dudareva N. // Trends Biotechnol. - 2007. - Vol. 25, № 3. - P. 105-110.
140. Pichersky, E. Biosynthesis of plant volatiles: nature's diversity and ingenuity / Pichersky E., Noel J.P., Dudareva N. // Science. - 2006. - Vol.311. - P. 808-811.
141. Pichersky, E. Floral Scent Production in *Clarkia* (*Onagraceae*) : Localization and Developmental Modulation of Monoterpene Emission and Linalool Synthase Activity / Pichersky E., Raguso R.A., Lewinsohn E., Croteau R. // Plant Physiology. - 1994. - Vol. 106, №4. - P. 1533-1540.
142. Picone, J.M. Rhythmic emission of floral volatiles from *Rosa damascene semperflorens* cv. "Quatre Saisons" / Picone J.M. [et al.] // Planta. - 2004. - Vol. 219. - P. 468-478.
143. Poddar, T.K. Analysis of static headspace technique for partially volatile matrices / Poddar T.K. // Journal of Chromatographic Science. - 1997. - Vol. 35. - P. 565-567.
144. Porat, R. Enhancement of petunia and dendrobium flower senescence by jasmonic acid methyl ester is via the promotion of ethylene production / Porat R., Borochoy A., Halevy A.H. // Plant Growth Regul. - 1993. - Vol.13, № 3. - P.297-301.
145. Rao, S. Plant cell cultures: chemical factories of secondary metabolites / Rao S., Ravishankar G. // Biotechnology advances. - 2002. - Vol. 20. - P.101-153.
146. Risch, S.J. Flavor chemistry: industrial and academic research / Risch S.J., Ho Ch.-T. // American Chemical Society. - 2000. - P. 180.
147. Roberts, D.D. Solid-phase microextraction method development for headspace analysis flavor compounds / Roberts D.D., Pollien P., Milo C. // J. Agric. Food Chem. - 2000. - Vol. 48. - P. 2430-2437.
148. Rodriguez-Concepcion, M. Supply of precursors for carotenoid biosynthesis in plants / Rodriguez-Concepcion M. // Archives of Biochemistry and Biophysics. - 2010. - Vol. 504. - P.118–122.
149. Rubiolo, P. Essential oils and volatiles: sample preparation and analysis / Rubiolo P. [et al.] // Flavour and Fragrance Journal. - 2010. - Vol. 25, № 5. - P. 282-290.

150. Safaei-Ghomi, J. Chemical variability of essential oil components of two *Rosa x Damascena* genotypes growing in Iran. / Safaei-Ghomi J., Akhoondi S., Batooli H., Dackhili M. // Chemistry of Natural Compound. - 2009. - Vol. 45, № 2. - P. 262-264.
151. Scalliet, G. Biosynthesis of the major scent components 3,5-dimethoxytoluene and 1,3,5-trimethoxybenzene by novel rose O-methyltransferases / Scalliet G. [et al.] // FEBS Letters. - 2002. - Vol. 523. - P. 113-118.
152. Scalliet, G. Scent evolution in Chinese roses / Scalliet G. [et al.] // PNAS. - 2008. - Vol. 105, №15. - P.5927-5932.
153. Schie, C. Regulation of terpenoid and benzenoid production in flowers / Schie C., Harig M., Schuurink R. // Current opinion in plant biology. - 2006. - Vol. 9. - P. 203-208.
154. Schilling, B. Investigation of odors in the fragrance industry / Schilling B., Kaiser R., Natsch A., Gautschi M. // Chemoecology. - 2010. - Vol, № 20. - P. 135-147.
155. Schuurink, R.C. Regulation of volatile benzenoid biosynthesis in petunia flowers / Schuurink R.C., Haring M.A., Clark D.G. // Trends in Plant Science. - 2006. - Vol. 11, № 1. - P. 20-25.
156. Schwab, W. Biosynthesis of plant-derived flavor compounds / Schwab W., Davidovich-Rikanati R., Lewinsohn E. // The plant Journal. - 2008.—Vol. 54. - P. 712-732.
157. Schwab, W. Enzymic formation of flavor volatiles from lipids / Schwab W., Schreier P. // Lipid Biotechnology / Kuo T.M., Gardner H.W. - New York : Marcel Dekker, 2002. - P. 293-318.
158. Shamspur, T. Chemical composition of the volatile oil of *Rosa Kazanlik* and *Rosa gallica* from Kerman Province in Iran / Shamspur T., Mostafavi A. // Jeobr. - 2010. - Vol. 13, № 1. - P. 78-84.
159. Shepherd, R.E. The history of the rose / Shepherd R.E. - New York: Macmillan. - 1954.
160. Sood, R.S. Constituents of rose oil from Kangra Valley, H.P. (India) / Sood R.S., Singh B., Singh V. // J. Essent. Oil Res. - 1992. - Vol. 4, № 4. - P. 425-425.

161. Steenhuisen, S.-L. Variation in scent emission among floral parts and inflorescence developmental stages in beetle-pollinated *Protea* species (*Proteaceae*) / Steenhuisen S.-L., Ragusto R.A., Jurgens A., Johnson S.D. // South African journal of Botany. - 2010. - Vol. 76. - P. 779-787.
162. Stockhorst, U. Olfactory perception, communication, and the nose-to-brain pathway / Stockhorst U., Pietrowsky R. // Physiology & Behavior. - 2004. - Vol. 83. - P. 3–11.
163. Tanaka, Y. Genetic engineering in floriculture / Tanaka Y., Katsumoto Y., Brugliera F., Mason J. // Plant cell, Tissue and organ culture. - 2005. - Vol. 80. - P. 1-24.
164. The good company information system - <http://www.thegoodscentcompany.com>.
165. Tholl, D. Terpene synthases and the regulation, diversity and biological roles of terpene metabolism / Tholl D. // Current opinion in plant biology. - 2009. - Vol. 9. - P. 297-304.
166. Tholl, D. Practical approaches to plant volatile analysis / Tholl D. [et al.] // The Plant Journal. - 2006. - Vol. 45. - P. 540-560.
167. Tholl, D. Two sesquiterpene synthases are responsible for the complex mixture of sesquiterpenes emitted from *Arabidopsis* flowers / Tholl D. [et al.] // Plant J. - 2005. - Vol.42, № 5. - P.757-771.
168. Ulrich, S. Solid phase microextraction in biomedical analysis / Ulrich S. // Journal of Chromatography A. - 2000. - Vol. 902. - P. 167-194.
169. United States Patent 4827663. Aromatic cut-flower support / Stern L.R. - 1989.
170. United States Patent 5353546. Combination vase and air fragrance dispenser / Bock R.F. - 1994.
171. United States Patent 5477640. Fragrance emitting plant watering system / Holtkamp Jr. - 1995.
172. United States Patent 7087552. Modification of floral scent in flowering plants / Blowers A., Dudareva N. - 2006.

173. Vainstein, A. Floral fragrance. New inroads into an old commodity / Vainstein A., Lewinsohn E., Pichersky E., Weiss D. // J Plant Physiol. - 2001. - Vol.127, № 4. - P. 1383-1389.
174. Verma, R. Volatile constituents of essential oil and rose water of damask rose (*Rose damascene Mill.*) cultivars from North Indian hills / Verma R. [et al.] // Natural product Research. - 2011. - Vol. 25, № 17. - P. 1577-1584.
175. Verpoorte, R. Engineering secondary metabolite production in plants / Verpoorte R., Memelink J. // Current opinion in biotechnology. - 2002. - Vol. 13. - P. 181-187.
176. Wink, M. Biochemistry of plant secondary metabolism / Wink M. - Blackwell Publishing Ltd, 2010. – 481 p.
177. Wright, P.H. The interactions of various rose species / Wright P.H. // American Rose Annual. - 1947. - Vol. 32. - P.169-172.
178. Wylie, A.P. The history of garden roses : part I / Wylie A.P. // J. Royal Horticultural Society. - 1954. - Vol.79. - P.555-574
179. Yazdani, F. Supercritical CO₂ extraction of essential oil from Clove bud: Effect of operation conditions on the selective isolation of eugenol and eugenol acetate / Yazdani F. [et al.] // Zeitschrift fur Naturforschung. - 2005. - Vol. 60b. - P. 1197-1201.
180. Zhang, Z. A review of advances and new developments in the analysis of biological volatile organic compounds / Zhang Z., Li G. // Microchemical Journal. - 2010. - Vol. 95, № 2. - P. 127-139.
181. Zlesak, D. Rose : Chapter 26 / Zlesak D. // Flower breeding and genetics. - 2007. - P. 695-740.
182. Zuker, A. Genetic engineering for cut-flower improvement / Zuker A., Tzfira T., Vainstein A. // Biotech Adv. - 1998. - Vol.16, №1. - P. 33-79.

ПРИЛОЖЕНИЯ

Таблица П.1.

Содержание компонентов смеси летучих органических соединений роз по временам выхода (метод улавливания на полимерный сорбент Тенах ТА), %.

№пп	RT*	Вещества / Варианты	Контроль	ФА	БК	АЦ	Коричная кислота	Ацетат натрия	БК+АЦ	ФА+ Ацетат Na
1	8,32	Метилацетат	—**	—	—	—	0,6	—	0,7	0,2
2	9,62	2-бутанон	—	—	—	—	2,0	0,8	0,1	1,5
3	9,98	2-бутанол	7,9	2,3	3,2	4,5	8,2	3,4	9,6	8,0
4	10,34	Гексан	5,0	9,9	20,7	2,0	7,3	2,6	5,6	3,6
5	11,42	3-пентанон	—	—	—	—	—	0,9	—	—
6	12,51	Пентаналь	—	—	—	—	1,5	—	—	—
7	13,84	3-метилбутанол	1,9	0,2	—	0,4	0,3	—	0,6	0,3
8	13,98	2-метилбутанол	1,5	0,2	—	0,4	0,4	—	0,7	0,3
9	15,14	Толуол	—	—	—	—	—	0,6	1,6	—
10	15,64	3-гексеналь	—	—	—	0,6	—	—	—	—
11	15,73	Гексеналь	—	—	—	0,4	—	—	—	—
12	15,76	Гексеналь	—	—	—	—	9,2	—	10,9	0,8
13	17,30	2-гексеналь	3,2	—	1,1	0,2	—	0,2	8,7	—

Таблица П.1. (продолжение)

№пп	RT	Вещества / Варианты	Контроль	ФА	БК	АЦ	Коричная кислота	Ацетат натрия	БК+АЦ	ФА+ Ацетат Na
14	17,60	3-гексенол	10,0	0,7	1,1	2,0	1,3	2,4	2,7	1,7
15	17,87	2-гексенол	3,9	–	–	–	–	–	1,5	–
16	17,95	1-гексанола	3,0	–	–	0,3	–	–	6,0	0,3
17	19,50	анизол (метоксибензол)	–	0,4	–	–	–	–	–	0,4
18	20,59	Бензальдегид	0,2	1,0	0,6	0,3	0,9	0,4	0,6	0,3
19	20,68	α -пинен	11,9	5,5	4,0	3,2	5,7	4,6	5,1	7,4
20	21,13	Камфен	0,9	0,4	0,5	0,4	0,9	0,4	0,6	0,8
21	21,64	метилбензиловый эфир	0,9	0,5	0,6	0,3	0,7	0,1	1,2	0,9
22	21,90	β -пинен	7,9	3,9	3,2	2,3	3,1	2,5	4,2	5,4
23	22,30	Декан	0,3	0,3	–	0,2	–	–	–	–
24	22,49	м-метиланизол	0,2	0,4	0,4	0,2	0,7	0,5	0,1	0,6
25	22,56	бензиловый спирт	0,5	–	0,7	0,4	0,2	–	0,1	0,3
26	22,64	2-этилгексанола	–	0,3	0,7	–	–	–	–	–
27	23,02	Карен	1,3	0,3	0,2	0,3	0,7	1,8	0,8	1,8
28	23,17	Лимонен	4,5	1,7	1,6	1,2	3,1	3,1	2,3	3,9
29	23,37	Оцимен	3,2	0,8	0,8	0,7	2,1	4,2	1,9	3,9
30	23,55	Ацетофенон	0,2	1,6	0,9	0,5	0,8	0,7	0,3	0,6

Таблица П.1. (продолжение)

№пп	RT	Вещества / Варианты	Контроль	ФА	БК	АЦ	Коричная кислота	Ацетат натрия	БК+АЦ	ФА+ Ацетат Na
31	24,39	Метилбензоат	–	–	2,3	–	–	–	–	–
32	24,57	Нонаналь	–	–	0,9	–	1,5	0,7	0,8	1,4
33	24,95	Ундекан	0,6	0,5	–	–	–	–	–	–
34	26,73	Ментол	–	–	–	0,4	–	–	–	–
35	27,06	Метилсалицилат	–	–	–	0,3	–	–	0,5	–
36	27,14	Деканаль	–	–	–	–	–	0,5	–	–
37	27,42	Додекан	0,2	0,5	–	–	–	–	–	–
38	27,59	бутилциклогексанон	–	–	–	0,7	–	–	–	–
39	28,52	3,5-диметокситолуол	4,5	15,0	14,1	14,0	14,9	13,8	7,7	16,7
40	29,79	диметилсалицилат	–	–	–	0,4	–	–	–	–
41	31,23	4-изопренил-3-карен	–	–	–	–	0,6	–	–	0,6
42	31,34	Метилэвгенол	–	–	0,4	–	0,2	–	–	0,5
43	31,52	1,3,5-триметоксибензол	0,5	1,9	2,1	1,8	1,5	0,9	0,8	1,5
44	31,87	Тетрадекан	–	0,2	1,1	–	–	–	–	–
45	31,96	α-кубебен	0,3	0,7	0,7	0,6	0,2	–	–	–
46	31,97	Копаен	–	–	–	–	0,9	0,5	–	0,7
47	32,72	дигидро-β-ионон	0,3	–	0,3	0,3	0,7	0,6	0,3	0,7

Таблица П.1. (продолжение)

№пп	RT	Вещества / Варианты	Контроль	ФА	БК	АЦ	Коричная кислота	Ацетат натрия	БК+АЦ	ФА+ Ацетат Na
48	32,99	Кариофиллен	14,2	29,6	18,2	35,4	17,9	31,8	8,8	17,4
49	33,10	α -аморфен	0,2	–	0,4	–	–	–	–	–
50	33,66	α -гумулен	0,6	1,4	1,3	1,5	0,7	1,2	0,5	0,9
51	33,89	γ -кадинен	8,4	14,4	12,2	15,1	8,1	12,8	9,1	12,7
52	34,13	гермакрин Д	1,5	3,9	3,9	5,5	2,9	2,8	1,0	2,6
53	34,30	α -мууролен	0,3	0,4	0,4	0,5	–	–	–	0,3
54	34,68	δ -кадинен	–	0,8	0,7	0,7	–	–	–	–

Примечания: * время удерживания (выхода из колонки), ** соединение не обнаружено.

Таблица П.2.

Содержание компонентов смеси летучих органических соединений роз по основным классам веществ на основании функциональных групп (метод улавливания на полимерный сорбент Терах ТА), %.

№пп	Вещества/Варианты	Контроль	ФА	БК	АЦ	Коричн.	АцетатNa	БК+АЦ	ФА+АцетатNa
Углеводороды, в том числе		61,3	75,1	69,9	69,8	54,2	69,0	41,5	62,2
предельные		6,1	11,4	21,8	2,3	7,3	2,6	5,6	3,6
1	гексан	5,0	9,9	20,7	2,0	7,3	2,6	5,6	3,6
2	декан	0,3	0,3		0,2				
3	ундекан	0,6	0,5						
4	додекан	0,2	0,5						
5	тетрадекан		0,2	1,1					
ароматические							0,6	1,6	
6	толуол						0,6	1,6	
терпеновые		55,2	63,7	48,1	67,5	46,9	65,8	34,4	58,6
7	α -пинен	11,9	5,5	4,0	3,2	5,7	4,6	5,1	7,4
8	камфен	0,9	0,4	0,5	0,4	0,9	0,4	0,6	0,8
9	β -пинен	7,9	3,9	3,2	2,3	3,1	2,5	4,2	5,4
10	карен	1,3	0,3	0,2	0,3	0,7	1,8	0,9	1,8
11	лимонен	4,5	1,7	1,6	1,2	3,1	3,1	2,3	4,0
12	оцимен	3,2	0,8	0,8	0,7	2,1	4,2	1,9	3,9

Таблица П.2. (продолжение)

№пп	Вещества/Варианты	Контроль	ФА	БК	АЦ	Коричн.	АцетатNa	БК+АЦ	ФА+АцетатNa
13	4-изопренил-3-карен					0,6			0,6
14	α -кубебен	0,3	0,7	0,7	0,6	0,2			
15	копаен					0,9	0,5		0,7
16	кариофиллен	14,2	29,6	18,2	35,4	17,9	31,8	8,8	17,4
17	α -аморфен	0,2		0,4					
18	α -гумулен	0,6	1,4	1,3	1,5	0,7	1,2	0,5	0,9
19	γ -кадинен	8,4	14,4	12,2	15,1	8,1	12,8	9,1	12,7
20	гермакрин Д	1,5	3,9	3,9	5,5	2,9	2,8	1,0	2,6
21	α -мууролен	0,3	0,4	0,4	0,5				0,3
22	δ -кадинен		0,8	0,7	0,7				
Спирты, в том числе		28,7	3,6	5,6	8,3	10,5	5,8	21,1	10,9
<i>предельные</i>		14,3	2,9	3,9	5,6	9,0	3,4	16,9	8,9
23	2-бутанол	7,9	2,3	3,2	4,5	8,2	3,4	9,6	8,0
24	3-метилбутанол	1,9	0,2		0,4	0,3		0,6	0,3
25	2-метилбутанол	1,5	0,2		0,4	0,4		0,7	0,3
26	1-гексанол	3,0			0,3			6,0	0,3
27	2-этилгексанол		0,3	0,7					
<i>непредельные</i>		13,9	0,7	1,1	2,0	1,3	2,4	4,2	1,7

Таблица П.2. (продолжение)

№пп	Вещества/Варианты	Контроль	ФА	БК	АЦ	Коричн.	АцетатNa	БК+АЦ	ФА+АцетатNa
28	3-гексенол	10,0	0,7	1,1	2,0	1,3	2,4	2,7	1,7
29	2-гексенол	3,9						1,5	
<i>ароматические</i>		<i>0,5</i>		<i>0,7</i>	<i>0,4</i>	<i>0,2</i>		<i>0,1</i>	<i>0,3</i>
30	бензиловый спирт	0,5		0,7	0,4	0,2		0,1	0,3
<i>терпеновые</i>					<i>0,4</i>				
31	ментол				0,4				
Эфиры, в том числе		6,1	18,2	20,0	17,1	18,5	15,3	11,1	20,9
<i>алифатические</i>						<i>0,6</i>		<i>0,8</i>	<i>0,2</i>
32	метилацетат					0,6		0,8	0,2
<i>ароматические</i>		<i>6,1</i>	<i>18,2</i>	<i>20,0</i>	<i>17,1</i>	<i>17,9</i>	<i>15,3</i>	<i>10,4</i>	<i>20,6</i>
33	анизол (метоксибензол)		0,4						0,4
34	метилбензиловый эфир	0,9	0,5	0,6	0,3	0,7	0,1	1,2	0,9
35	м-метиланизол	0,2	0,4	0,4	0,2	0,7	0,5	0,1	0,6
36	метилбензоат			2,3					
37	метилсалицилат				0,3			0,5	
38	3,5-диметокситолуол	4,5	15,0	14,1	14,0	14,9	13,8	7,7	16,7
39	диметилсалицилат				0,4				
40	метилэвгенол			0,4		0,2			0,5

Таблица П.2. (продолжение)

№пп	Вещества/Варианты	Контроль	ФА	БК	АЦ	Коричн.	АцетатNa	БК+АЦ	ФА+АцетатNa
41	1,3,5-триметоксибензол	0,5	1,9	2,1	1,8	1,5	0,9	0,8	1,5
Альдегиды, в том числе		3,4	1,0	2,7	1,6	13,0	1,8	20,9	2,5
<i>предельные</i>				0,9		12,1	1,2	11,7	2,1
42	пентаналь					1,5			
43	гексаналь					9,2		10,9	0,8
44	нонаналь			0,9		1,5	0,7	0,8	1,4
45	деканаль						0,5		
<i>непредельные</i>		3,2		1,1	1,3		0,2	8,7	
46	3-гексеналь				0,6				
47	гексеналь				0,4				
48	2-гексеналь	3,2		1,1	0,2		0,2	8,7	
<i>ароматические</i>		0,3	1,0	0,6	0,3	0,9	0,4	0,6	0,3
49	бензальдегид	0,3	1,0	0,6	0,3	0,9	0,4	0,6	0,3
Кетоны, в том числе		0,4	1,6	1,2	1,5	3,5	3,0	0,7	2,8
<i>предельные</i>						2,0	1,7	0,1	1,5
50	2-бутанон					2,0	0,8	0,1	1,5
51	3-пентанон						0,9		
<i>циклические алифатические</i>					0,7				

Таблица П.2. (продолжение)

№пп	Вещества/Варианты	Контроль	ФА	БК	АЦ	Коричн.	АцетатNa	БК+АЦ	ФА+АцетатNa
52	бутилциклогексанон				0,7				
<i>ароматические</i>		0,2	1,6	0,9	0,5	0,8	0,7	0,3	0,6
53	ацетофенон	0,2	1,6	0,9	0,5	0,8	0,7	0,3	0,6
<i>терпеновые</i>		0,3		0,3	0,3	0,7	0,6	0,3	0,7
54	дигидро-β-ионон	0,3		0,3	0,3	0,7	0,6	0,3	0,7
Всего идентифицировано веществ		32	30	31	35	32	27	32	33

Примечания: * соединение не обнаружено.

Таблица П.3.

Содержание компонентов смеси летучих органических соединений роз по основным классам веществ на основании биохимических путей синтеза (метод улавливания на полимерный сорбент Tenax TA), %.

№ пп	Варианты / Вещества	Контроль	БК	АЦ	ФА	Коричная к-та	ФА+ АцетатNa	БК+АЦ	АцетатNa
<i>Производные жирных кислот</i>									
1	2-Бутанол	7,9	3,2	4,5	2,2	8,2	8,0	9,7	3,4
2	2-Бутанон	- *	-	-	-	2,0	1,5	0,1	-
3	Тетрадекан	-	1,1	-	0,2	-	-	-	-
4	Бутилциклогексанон	-	-	0,7	-	-	-	-	-
5	Додекан	0,2	-	-	0,5	-	-	-	-
6	Деканаль	-	-	-	-	-	-	-	0,5
7	Ундекан	0,6	-	-	0,5	-	-	-	-
8	Нонаналь	-	0,9	-	-	1,5	1,4	0,8	0,7
9	2-Этилгексанол	-	0,7	-	0,3	-	-	-	-
10	Декан	0,3	-	0,2	0,3	-	-	-	-
11	Гексанол	3,0	-	0,3	-	-	0,3	6,0	-
12	2-Гексенол	3,9	-	-	-	-	-	1,5	-
13	3-Гексенол	9,9	1,1	2,0	0,7	1,4	1,7	2,7	2,4
14	2-Гексеналь	3,2	1,1	0,2	-	-	-	8,7	0,2
15	Гексаналь	-	-	-	-	9,2	0,8	10,9	-

Таблица П.3. (продолжение)

№ пп	Варианты / Вещества	Контроль	БК	АЦ	ФА	Коричная к-та	ФА+ АцетатNa	БК+АЦ	АцетатNa
16	Гексеналь	-	-	0,4	-	-	-	-	-
17	3-Гексеналь	-	-	0,6	-	-	-	-	-
18	2-Метилбутанол	1,5	-	0,4	0,2	0,4	0,3	0,7	-
19	3-Метилбутанол	1,9	-	0,4	0,2	0,3	0,3	0,6	-
20	Пентаналь	-	-	-	-	1,5	-	-	-
21	3-Пентанон	-	-	-	-	-	-	-	0,9
22	Гексан	5,0	20,7	2,0	9,9	7,2	3,6	5,6	2,6
23	Метилацетат	-	-	-	-	0,6	0,2	0,7	-
Итого		37,4	28,8	11,7	15,0	32,3	18,1	48,0	10,7
<i>Ароматические соединения</i>									
1	3,5-ДМТ	4,5	14,1	14,0	15,0	14,9	16,7	7,7	13,8
2	1,3,5-ТМБ	0,5	2,1	1,9	1,9	1,5	1,5	0,8	0,9
3	Метилэвгенол	-	0,4	-	-	0,2	0,5	-	-
4	Диметилсалицилат	-	-	0,4	-	-	-	-	-
5	Метилсалицилат	-	-	0,3	-	-	-	0,5	-
6	Метилбензоат	-	2,3	-	-	-	-	-	-
7	Ацетофенон	0,2	0,9	0,5	1,6	0,8	0,6	0,3	0,7
8	Бензиловый спирт	0,5	0,7	0,3	-	0,2	0,3	0,1	-

Таблица П.3. (продолжение)

№ пп	Варианты / Вещества	Контроль	БК	АЦ	ФА	Коричная к-та	ФА+ АцетатNa	БК+АЦ	АцетатNa
9	м-Метиланизол	0,2	0,4	0,2	0,4	0,7	0,6	0,1	0,5
10	Метилбензоат	0,9	0,6	0,3	0,5	0,7	0,9	1,2	0,1
11	Бензальдегид	0,3	0,6	0,3	0,9	0,9	0,4	0,6	0,3
12	Анизол	-	-	-	0,4	-	0,4	-	-
13	Толуол	-	-	-	-	-	-	1,6	0,6
Итого		7,1	22,1	18,2	20,7	19,9	21,9	12,9	16,9
<i>Терпены/терпеноиды</i>									
1	Кариофиллен	14,2	18,2	34,9	29,6	17,9	17,4	8,8	31,8
2	γ-Кадинен	8,4	12,2	15,1	14,4	8,1	12,7	9,1	12,8
3	Гермакрин D	1,5	3,9	5,5	3,9	2,9	2,7	0,7	2,8
4	α-Пинен	11,9	4,0	3,3	5,5	5,7	7,4	5,1	4,6
5	β-Пинен	7,8	3,1	2,3	3,9	3,1	5,4	4,2	2,5
6	α-Кубебен	0,3	0,7	0,6	0,7	0,2	-	-	-
7	α-Гумулен	0,6	1,2	1,5	1,4	0,7	0,9	0,5	1,3
8	α-Мууролен	0,3	0,4	0,6	0,4	-	0,3	-	-
9	α-Аморфен	0,2	0,3	-	-	-	-	-	-
10	Дигидро-β-ионон	0,2	0,3	0,4	-	0,7	0,7	0,3	0,6
11	Копаен	-	-	-	-	0,9	0,7	-	0,5

Таблица П.3. (продолжение)

№ пп	Варианты / Вещества	Контроль	БК	АЦ	ФА	Коричная к-та	ФА+ АцетатNa	БК+АЦ	АцетатNa
12	δ-Кадинен	-	0,7	0,7	0,8	-	-	-	-
13	4-Изопренил-3-карен	-	-	-	-	0,6	0,6	-	-
14	Ментол	-	-	0,4	-	-	-	-	-
15	Оцимен	3,2	0,8	0,7	0,8	2,1	3,9	1,9	4,2
16	Лимонен	4,5	1,6	1,2	1,7	3,1	3,9	2,3	3,1
17	Карен	1,3	0,2	0,3	0,3	0,7	1,8	0,8	1,8
18	Камфен	0,9	0,5	0,4	0,6	0,9	0,8	0,6	0,4
Итого		55,3	48,1	67,9	64,0	47,6	59,2	34,3	66,4

Примечания: * соединение не обнаружено.

Таблица П.4.

Содержание компонентов смеси летучих органических соединений роз по основным классам веществ на основании биохимических путей синтеза (метод улавливания на сорбент активированный уголь), %.

Контрольный вариант					Ацетилсалициловая кислота				Фенилаланин				Бензойная кислота	
№пп	Вещества	Контр. 24	Контр. 48	Контр. 72	АЦ 24	АЦ 48	АЦ*2 24	АЦ*2 48	ФА 24	ФА 48	ФА*2 24	ФА*2 48	БК 24	БК 48
	<i>Терпены и терпеноиды</i>	<i>55,1</i>	<i>65,7</i>	<i>37,7</i>	<i>58,3</i>	<i>63,0</i>	<i>49,2</i>	<i>45,9</i>	<i>73,4</i>	<i>69,4</i>	<i>66,6</i>	<i>91,1</i>	<i>68,0</i>	<i>74,1</i>
1	пинен	—*	—	—	—	10,3	—	—	4,3	—	1,3	—	—	—
2	цимен	—	—	—	—	—	—	—	4,6	—	2,4	—	—	—
3	изо-кариофиллен	—	—	—	—	—	1,9	—	—	—	—	—	—	—
4	шамигрен	—	—	—	1,8	—	—	—	—	—	—	—	—	—
5	кадинен	—	—	—	0,6	—	0,6	—	—	—	—	—	—	—
6	лимонен	8,4	14,9	—	14,8	—	15,9	17,2	—	12,6	—	21,1	20,2	24,5
7	эвкалиптол	16,7	—	—	—	—	—	—	17,1	—	10,8	—	—	—
8	элемен	1,5	23,5	—	—	0,4	—	—	1,9	25,3	1,6	21,6	7,4	10,3
9	лонгифолен	—	0,9	—	—	0,9	—	—	—	1,5	—	1,4	—	—
10	кариофиллен	6,7	15,8	5,6	21,6	15,8	18,5	12,2	17,5	16,9	25,9	8,1	12,3	13,3
11	кубебен	0,8	—	—	—	1,8	—	—	4,1	—	2,9	—	0,9	—
12	дигидроионон	0,5	—	—	1,0	—	0,7	—	—	—	—	—	0,9	1,8
13	гумулен	1,6	1,5	—	1,8	1,3	1,8	—	2,1	1,7	2,4	1,3	1,3	0,4
14	α-мууролен	13,5	6,5	32,1	12,7	10,2	7,4	14,9	10,4	8,6	9,8	4,6	9,0	9,1
15	β-мууролен	2,0	1,5	—	2,7	—	1,3	1,6	3,3	1,6	1,5	1,6	1,7	2,5
16	гермакрин	3,4	0,5	—	—	0,5	—	—	—	0,5	—	0,3	0,4	0,5
17	эудесмен	—	—	—	—	—	—	—	—	0,7	—	0,8	—	—

Таблица П.4. (продолжение)

Контрольный вариант					Ацетилсалициловая кислота				Фенилаланин				Бензойная кислота	
№пп	Вещества	Контр. 24	Контр. 48	Контр. 72	АЦ 24	АЦ 48	АЦ*2 24	АЦ*2 48	ФА 24	ФА 48	ФА*2 24	ФА*2 48	БК 24	БК 48
18	валенцен	—	—	—	—	—	—	—	—	—	1,3	—	—	—
19	геранилацетон	—	0,6	—	—	0,4	—	—	—	—	—	—	0,6	1,0
20	линалоолацетат	—	—	—	1,3	—	1,1	—	—	—	—	2,1	—	—
21	терпенилацетат	—	—	—	—	21,4	—	—	8,1	—	6,7	28,2	13,3	10,7
Ароматические соединения		44,9	29,4	62,4	41,5	36,8	48,6	54,0	26,6	30,7	33,3	8,9	32,0	25,9
22	пропокси-пропиофенон	—	—	—	1,0	—	1,3	2,3	—	—	—	—	—	—
23	n-виниланизол	7,2	9,5	41,5	1,9	—	6,0	13,3	—	10,8	—	—	—	—
24	бензотиазол	—	—	7,3	—	—	1,6	1,7	—	—	—	—	—	—
25	изобутилбензоат	—	—	4,9	—	—	0,8	1,3	—	—	—	—	—	—
26	линалилантранилат	—	3,7	—	—	0,8	—	—	3,9	4,7	3,9	—	—	—
27	диметокситолуол	33,5	13,7	—	23,2	28,9	29,9	25,3	16,9	13,1	23,0	7,9	28,8	17,7
28	триметоксибензойная к-та	4,2	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
29	триметоксибензол	—	2,5	8,7	15,4	7,1	9,0	10,1	5,8	2,1	6,4	1,0	3,2	8,2
Производные жирных кислот		—	3,7	—	—	—	1,7	—	—	—	—	—	—	—
30	диизобутилсукцинат	—	—	—	—	—	1,7	—	—	—	—	—	—	—
31	тетрадекан	—	3,7	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Всего идентифицировано веществ		13	14	6	13	13	16	10	13	13	14	13	13	12

Примечание: *- соединение не обнаружено.

Таблица П.5.

Оценка аромата роз после 24 и 48 часов экспозиции растений в растворе, баллы

24 часа					48 часов			
№	Контроль	БК*	ФА	АЦ	Контроль	БК	ФА	АЦ
1	4	3	3	1	1	1	4	2
2	2	3	4	1	4	2	2	1
3	1	4	3	3	4	1	2	2
4	2	1	4	2	4	1	2	3
5	3	2	4	1	1	4	2	3
6	4	1	3	3	1	4	3	2
7	2	2	4	3	3	4	2	1
8	1	4	3	2	2	4	2	2
9	1	2	4	3	3	4	2	1
10	1	4	3	3	2	4	1	2
11	2	4	2	2	2	4	1	2
12	4	1	2	3	1	4	3	2
13	1	4	2	3	4	1	3	2
14	4	2	2	1	2	4	2	3
15	4	2	1	1	2	1	4	1
16	2	4	1	2	4	1	2	2
17	4	2	2	1	1	3	4	1
18	3	4	2	2	3	4	2	3
19	2	4	3	2	3	4	1	3
20	1	3	4	1	4	2	3	1
среднее	2,4	2,8	2,8	2	2,55	2,85	2,35	1,95

Примечание: * концентрация всех предшественников 1 мг/мл.

Таблица П.6.

Оценка аромата роз после 24 часов экспозиции растений в растворе, баллы

№	Контроль	БК*	ФА	АЦ	Коричная кислота	Ацетат натрия	БК+АЦ	ФА+Ацетат натрия
1	4	3	3	1	2	3	1	4
2	2	3	4	1	4	3	1	4
3	1	4	4	3	4	4	2	4
4	2	4	3	2	3	1	2	3
5	2	2	4	1	2	2	1	3
6	4	1	3	3	3	1	3	3
7	2	2	4	3	2	2	3	4
8	1	4	3	2	3	4	2	3
9	1	2	3	3	1	2	3	4
10	1	4	3	3	3	2	3	3
11	2	2	4	2	3	3	1	4
12	4	2	2	3	2	1	3	2
13	1	4	2	3	4	4	2	3
14	4	2	2	1	1	2	1	3
15	4	2	2	1	2	2	1	4
16	1	4	2	2	4	3	2	2
17	4	2	2	1	1	2	1	3
18	3	3	2	2	2	3	2	4
19	2	4	3	2	3	4	2	3
20	1	2	4	1	3	3	2	3
Среднее	2,3	2,8	3,0	2,0	2,6	2,6	1,9	3,3

Примечание: * концентрация всех предшественников 1 мг/мл.