

УДК 634.334:581.45

Н. В. ГЕТКО¹, А. А. АЛЕХНА¹, В. П. СУБОЧ²,
И. М. ПОЧИЦКАЯ², В. В. ТИТОК¹

**СОСТАВ ЛЕТУЧИХ КОМПОНЕНТОВ ЛИСТЬЕВ ГИБРИДОВ И СОРТОВ ЛИМОНА
(*Citrus × limon* (L.) Burm.f.), КУЛЬТИВИРУЕМЫХ В ОРАНЖЕРЕЕ**

¹Центральный ботанический сад НАН Беларуси, Минск, e-mail: hetko@list.ru,

²Научно-практический центр НАН Беларуси по продовольствию, Минск, e-mail: SubochVP@mail.ru

(Поступила в редакцию 25.07.2013)

Введение. Лимон (*Citrus × limon* (L.) Burm.f.) – гибридный вид деревьев из рода Цитрус (*Citrus* L.) трибы Цитрусовые (*Citreae* Tan.) семейства Рутовые (*Rutaceae* Juss.). Родина – Индия, Китай и тихоокеанские тропические острова. В дикорастущем виде неизвестен и, вероятнее всего, это – гибрид, спонтанно возникший в природе и длительное время развивавшийся как самостоятельный вид. Широко культивируется также во многих странах с субтропическим климатом для получения плодов и эфирных масел. Из стран Евразийского региона его выращивают в стелюющей культуре в Азербайджане, а в качестве траншейной культуры – в Средней Азии (Узбекистане, Таджикистане). В условиях умеренного климата в оранжерейной культуре выращивается лимон Мейера (*Citrus × meyeri* Ju.Танака) – гибридный вид, полученный путем скрещивания лимона и апельсина. Родиной вида считается Китай. Повсеместно распространена и комнатная культура лимона, а город Павлово-на-Оке Нижегородской области стал центром распространения почти по всей России известного с начала XX века сорта – Павловского лимона. Этот сорт, полученный из Богородского плодопитомнического совхоза в 1974 г., послужил началом коллекции видов, сортов и гибридов рода *Citrus* L. в Центральном ботаническом саду НАН Беларуси. В 1978 г. из Батуми был привезен лимон сорта Новоафонский, в 1991 и 1996 гг. из Института горного садоводства г. Сочи получен лимон Мейера и сорта: Ponderosa, Новогрузинский, Кантонский, Villa Franka, Eureka, Lisbon, Мир, в 1995 г. – Скерневицкий лимон из Польши. Коллекция пополняется за счет обмена с ведущими в этой области научными учреждениями других стран, и в настоящее время она представлена 83 таксонами [1].

Цитрусовые содержат широкий спектр биологически активных соединений в цветах, плодах и листьях. Это, прежде всего, витамины, биофлавоноиды, органические кислоты и эфирные масла. В последнее время летучим компонентам эфирных масел, содержащимся в кожуре плодов и в листьях, уделяется большое внимание благодаря их широкому использованию в пищевой, парфюмерной индустрии и медицине. В парфюмерии, например, используется петигрениевое померанцевое масло, получаемое из листьев и молодых побегов горького померанца (*Citrus aurantium* L.), культивируемого в Южной Америке, а также в Италии, Франции и в других странах Средиземноморья [2].

Интерес представляют исследования, связанные с изучением антимикробной активности эфирных масел цитрусовых. Одним из основных компонентов в составе лимонного и апельсинового масел является лимонен с концентрацией в пределах 88–95 %. В масле бергамота его вдвое меньше: 32–45 % [3]. Цитралю отводится ведущая роль как активному компоненту против гнилей, вызываемых *Penicillium digitatum* и *Penicillium italicum* [4]. При сравнительном изучении эффективности эфирных масел лимона, апельсина и бергамота против таких патогенов, как *Listeria monocytogenes*, *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus*, *Escherichia coli* и *Campylobacter jejuni*, наиболее эффективным из испытанных оказалось эфирное масло бергамота, а самым эффективным компонентом масел – линалоол [5].

Кроме того, летучие компоненты эфирных масел могут служить базой для выделения хемотипов среди таксонов, представляющих внутривидовое разнообразие определенных групп растений, а применение современных методов GC и GC/MS позволяет в ряде случаев выявлять такие хемотипы. Например, по летучим компонентам эфирного масла листьев 43 таксонов лимона и лайма, культивируемых во Франции, были выделены два хемотипа лимона и четыре лайма. В одном случае для лимонов это лимонен/бета-пинен/гераниаль/нераль, а в другом – линалоол/линалил ацетат/альфа-терпинол. Для лайма это бета-пинен/лимонен, лимонен/гераниаль/нераль, лимонен/линалоол/цитронеллаль и лимонен/сабинен/цитронеллаль/линалоол [6].

В масле листьев лимона *Zambetakis*, выращиваемого на острове Крит, идентифицировано 35 летучих субстанций. Основными среди них являются лимонен, бета-пинен, мирцен, нераль, гераниаль, нерил ацетат, геранил ацетат и бета-кариофиллен [7].

Цель данной работы – на основе изучения состава летучих субстанций листьев гибридных форм и сортов лимона (*Citrus × limon* (L.) Burm.f.) дать биохимическую оценку внутривидовому разнообразию таксонов, культивируемых в Центральном ботаническом саду НАН Беларуси в качестве оранжерейной культуры.

Объекты и методы исследования. Кроме уже упомянутых Павловского лимона и лимона Мейера, исследованиями охвачено еще 13 таксонов, а именно лимон Юбилейный, лимон Интердонато – гибрид (*Citrus × limon × Citrus medica* L.), лимон Бразильский (*Citrus × limon* 'Brasil') – лимон лайм, лимон Санта Тереза (*Citrus × limon* 'Santa Teresa') – гибрид итальянской селекции (*Citrus × limon* 'Femminello SantaTeresa' × *Citrus × limon* 'Italian'), лимон Мир – гибрид от скрещивания лимона Новогрузинский и апельсина сорта Сочинский; лимон Мелароза (*Citrus × limon* 'Melarosa') – гибрид бергамота (*Citrus bergamia* Risso a. Poit.), лимон Уварова – отечественный сорт; лимон Кузнера – гибрид (*Citrus × limon × Poncirus trifoliata* L.), лимон Лисбон (*Citrus × limon* 'Lisbon'), лимон Новогрузинский (Ново-Афонский, Абхазский), лимон Монакелло (*Citrus × limon* 'Monakello'), лимон Эврика (*Citrus × limon* 'Eureka'), лимон Скерневицкий (*Citrus × limon* 'Skernevitsky') – один из клонов сорта Пондероза (*Citrus × limon* 'Ponderosa') – гибрида (*Citrus × limon × Citrus paradisi* Macfad).

Использован метод, разработанный в Лаборатории хроматографических исследований Республиканского контрольно-испытательного комплекса по качеству и безопасности продуктов питания Научно-практического центра по продовольствию НАН Беларуси и используемый для изучения состава ароматизаторов в продуктах питания [8]. Метод использован нами при сравнительном изучении летучих компонентов листьев *Cinnamomum camphora* (L.) Sieb., *C. tamala* (Buch.-Ham.) Nees & Eberm. и *C. glanduliferum* (Wall) Meissn, культивируемых в оранжереях ЦБС НАН Беларуси [9]. Он основан на извлечении легколетучих соединений из паровоздушного пространства над поверхностью размещенных в 40 мл флаконе с завинчивающейся крышкой с резиновой мембраной мелкоизмельченных, воздушно-сухих образцов листьев, с последующим хроматографическим разделением. Образцы помещали в термостат, нагретый предварительно до 40 °С. Экстракцию летучих компонентов осуществляли с помощью твердофазного микроэкстрактора фирмы Supelco™, который представляет собой шприц с размещенным внутри волокном с адсорбентом. Летучие компоненты, содержащиеся в воздушном пространстве над образцом, накапливаются до необходимой концентрации на адсорбенте экстрактора.

Анализ компонентного состава экстрактов осуществляли методом GC/MS с использованием системы «Agilent Technologies 6850 Series II» (Network GC System /5975B (VL MSD). Разделение компонентов проводили на капиллярной колонке HP-5MS длиной 30 м с внутренним диаметром 0,25 мм и толщиной пленки неподвижной фазы 0,25 мкм. Условия хроматографического анализа: начальная температура колонки 40 °С (2 мин), нагревание колонки со скоростью 10 °С/мин до температуры 240 °С, выдержка 8 мин, температура инжектора 250 °С, температура детектора 280 °С, скорость потока газа-носителя (гелий) – 0,5 мл/мин.

Идентификацию каждого из компонентов осуществляли методом сравнения экспериментальных масс-спектров со спектрами базы данных и оценивали относительное содержание по площади их пиков на хроматограмме. Учитывали только те компоненты, содержание которых в пробах составляет более 1 % и идентификация которых по масс-спектрам не вызывала сомне-

ний, а степени совпадения экспериментальных масс-спектров с библиотечными были в пределах 95–99 %. Исследования проведены совместно с Научно-практическим центром по продовольствию НАН Беларуси.

Результаты и их обсуждение. В целом для всей изучаемой группы таксонов выявлены 22 основные летучие субстанции эфирных масел листьев, составляющие в сумме для каждого из них долю более 90 % от общего объема летучих компонентов (таблица). Но в каждом отдельном случае число их варьировало от 6 до 14. Наиболее широким спектром этих соединений характеризуются листья лимонов Мейера и Мелароза (14 компонентов), лимонов – Бразильского, Абхазского, Лисбон и Эврика (13 компонентов). В листьях лимона Уварова идентифицировано 12, а в листьях лимонов Павловского и Монакелло – 11 летучих субстанций.

Как видим из представленных в таблице данных, в образцах листьев исследованной группы таксонов лимона в заметных количествах содержатся два основных класса летучих соединений – углеводороды и кислородсодержащие соединения (спирты, альдегиды и сложные эфиры). Среди углеводородов основными соединениями являются представители класса изопреноидов – монотерпены с общей формулой $C_{10}H_{16}$ и молекулярной массой 136 у.е., время удерживания – 8–12 мин, и сесквитерпены с брутто-формулой $C_{15}H_{24}$ и молекулярной массой 204 у.е., время удерживания – 15–17 мин. Относительные содержания идентифицированных соединений различаются и зависят от генотипа растений. Так, из монотерпенов общим для всей исследуемой группы таксонов является D-лимонен, и доли содержания его в летучих субстанциях листьев варьируют в пределах 4–35 %.

Среди кислородсодержащих соединений преобладают цитронеллаль (монотерпеновый альдегид) с ароматом лимона, идентифицированный у 11 таксонов; цитраль (монотерпеновый ациклический альдегид) и его изомеры, идентифицированные у 12 таксонов; гераниол (терпеноидный спирт) и его эфиры – Z, E-геранил ацетат, присутствующие в ощутимых количествах в летучих субстанциях листьев почти всей группы исследуемых таксонов.

Сесквитерпен β -кариофиллен является одним из общих компонентов в составе летучих субстанций листьев для всей исследуемой группы таксонов лимона, и доля его содержания, в зависимости от генотипа, варьирует в пределах от 4 до 45 % и более, и самая высокая – в листьях лимона Эврика (45,73 %). В этой связи следует отметить, что концентрации летучих компонентов такого уровня, свойственные отдельным таксонам, можно отнести с уверенностью к их отличительным биохимическим характеристикам. Так, высокая концентрация терпеноида цитронеллала (49 %) в составе летучих компонентов листьев характерна только для лимона Интердонато, а терпеноида геранил ацетата (60,8 %) – для лимона Санта Тереза. И совершенно уникальным в этом плане является присутствие в составе летучих компонентов листьев лимона Мейера бета-элемена – (β -Elemene) – (Cyclohexane,1-ethenyl-1-methyl-2,4-bis(1-methylethenyl)-, [1S-1.alpha,2.beta,4.beta]) – сесквитерпена, с долей содержания 22 %, который характерен для апельсина и других цитрусовых, за исключением лимонов. Кроме того, что это является подтверждением гибридного происхождения лимона Мейера (межвидовой гибрид апельсина и лимона), значение данного факта еще и в том, что этому компоненту эфирных масел растительного происхождения уделяется большое внимание благодаря его свойствам ингибировать деление клеток злокачественных опухолей. Особенно интенсивно исследования в этой области развиваются в Китае [10].

К тест-признакам можно также отнести и другие, единично встречающиеся среди исследованной группы таксонов летучие субстанции листьев. Например, бициклический терпен 3-карен с запахом сосновой коры идентифицирован только у лимона Уварова, терпеноидный спирт итронеллол с ароматом розы – у лимонов Мейера и Юбилейный, альфа-оцимен [1,3,7-Octatriene, 3,7-dimethyl-, (E)-] – смесь ациклических монотерпеновых углеводородов с запахом базилика – у лимона Мейера, в то время как бета-оцимен [1,3,6-Octatriene, 3,7-dimethyl-, (Z)-] обнаружен в составе летучих компонентов эфирных масел листьев 11 таксонов.

Наибольшее распространение среди остальных субстанций имеют сесквитерпены (α -кариофиллен, обнаруженный в листьях 10 таксонов и α - и β -бисаболен), выявленные в листьях 11 таксонов.

Время удерживания, мин	Название соединений*, формула	Относительные содержания летучих компонентов в образцах листьев сортов и гибридов лимона, %														
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
14,33	2,6-Octadiene, 2,6-dimethyl-2,6-Dimethyl 2,6-octadiene, C ₁₀ H ₁₈		5,96	18,10	10,6	5,67			3,69	1,19						3,79
14,566	2,6-Octadien-1-ol, 3,7-dimethyl acetate-, (Z)-, <i>Cis-geranyl acetate</i> , <i>Nerol acetate</i> , C ₁₂ H ₂₀ O ₂		4,35		1,81	11,51	60,83		8,20				9,50		18,03	5,75
14,7–14,8	Cyclopropane, 1,1-dimethyl-2-(3-methyl-1,3-butadienyl)-, C ₁₀ H ₁₆	5,47	1,12							7,5	1,5					
14,843	2,6-Octadien-1-ol, 3,7-dimethyl acetate-, (E)- <i>Geranyl acetate</i> , C ₁₂ H ₂₀ O ₂					27,98		4,95	3,25	64,1			7,78	4,17	1,33	33,30
15,054	Cyclohexane, 1-ethenyl-1-methyl-2-methylethenyl) <i>beta-Elemente</i> , C ₁₅ H ₂₄		21,9													
15,4–15,5	Bicyclo[7.2.0]undec-4-ene, 4,11,11-trimethyl-8-methylene-, <i>Beta-Caryophyllene</i> , C ₁₅ H ₂₄	23,95	26,00	8,1	14,7	17,1	22,52	22,4	17,8	3,8	5,3	36,4	33,21	23,27	45,73	12,0
15,9	Alpha-Caryophyllene	0,90	3,00	2,1		1,23	0,87		1,2			1,3	1,62	2,0	1,40	
16,4	Cyclohexene, 1-methyl-4-(5-methyl-1-methylene-4-hexenyl)-, (S)- <i>alpha- и beta-Bisabolene</i> , C ₁₅ H ₂₄	3,33	3,97	1,5	3,41	6,4		1,23	2,3				1,92	1,73	1,84	2,42
	Итого:	95,8	93,21	93,8	98,6	92,68	92,43	96,54	94,12	95,93	93,5	93,6	85,06	97,76	95,85	98,45

Примечание. Таксоны лимонов: 1 – лимон Павловский, 2 – лимон Мейера, 3 – лимон Юбилейный, 4 – лимон Интердонато, 5 – лимон Бразильский, 6 – лимон Санта-Тереза, 7 – лимон Мир, 8 – лимон Мелароза, 9 – лимон Уварова, 10 – лимон Кузнера, 11 – лимон Лисбон, 12 – лимон Абхазский, 13 – лимон Монакелло, 14 – лимон Эврика, 15 – лимон Скерневицкий.

* Курсивом обозначены другие названия (*other names*) химических соединений.

Заклучение. Методом GC/MS с использованием системы «Agilent Technologies 6850 Series II» (Network GC System /5975B (VL MSD) изучен компонентный состав летучих субстанций эфирных масел листьев 15 таксонов лимона (*Citrus × limon* (L.) Burm.f.), которые культивируются в оранжереях Центрального ботанического сада НАН Беларуси. Выявлены 22 основные летучие субстанции, представляющие два класса соединений – углеводороды и кислородсодержащие соединения (спирты, альдегиды и сложные эфиры). Среди углеводородов основными компонентами, обнаруженными у всех таксонов исследованной группы, являются монотерпен D-лимонен и сесквитерпен β-кариофиллен. Доли содержания их в общем объеме идентифицированных летучих соединений различаются и зависят от генотипа растений. В качестве химической характеристики таксонов лимона может быть предложено относительное содержание в листьях кислородсодержащих летучих компонентов, а именно citronellal, geranyl acetate, среди соединений, идентифицированных только у одного таксона – 3 carene [Bicyclo[4.1.0]hept-3-ene, 3,7,7-trimethyl-] – у *Citrus × limon* 'Interdonato' и beta-elemene [Cyclohexane, 1-ethenyl-1-methyl-2-methylethenyl-] – у *Citrus × meyeri* Ju.Tanaka.

Литература

1. Алехна А.И., Роговой П.А. // Материалы Юбилейной междунар. конф., посвященной 170-летию Сухумского ботанического сада. Сухум, 2011. С. 72–75.
2. Хейфиц Л.А., Дауниин В.М. Душистые вещества и другие продукты для парфюмерии. М., 1994.
3. Moufida S., Marzouk B. // Phytochemistry. 2003. Vol. 62. P. 1283–1289.
4. Caccioni D. R. L., Guizzardi M., Biondi D. M. et al. // Int. J. Food Microbiol. 1998. Vol. 43. P. 73–79.
5. Fisher K., Phillips C. A. // J. Appl. Microbiol. 2006. Vol. 101. P. 1232–1240.
6. Lota M.-L., de Rocca Serra D., Tomi F. et al. // J. Agric. Food Chem. 2002. Vol. 50. P. 796–805.
7. Vekari S.-A., Protopapadakis E.-E., Papadopoulou P. et al. // J. Agric. Food Chem. 2002. Vol. 50. P.147–153.
8. Почыцкая И.М., Субач В.П., Рослик В.Л. // Материалы VIII Междунар. науч.-практ. конф. «Инновационные технологии в пищевой промышленности». Мн., 2009. С. 290.
9. Hetka N., Subach V., Rogovoy P. // Book of abstracts of 11th Symposium on the Flora of Southeastern Serbia and Neighboring Regions. Vlasina, 2013. P. 103–104.
10. Zhu T., Xu Y., Dong B. et al. // Oncology reports. 2011. Vol. 26. P. 405–413.

N. V. HETKA, A. I. ALEHNA, V. P. SUBACH, I. M. POCHYTSKAYA, V. V. TITOK

LEAF VOLATILE COMPONENTS OF LEMON HYBRIDS AND VARIETIES (*Citrus × limon* (L.) Burm.f.), CULTIVATED IN GREENHOUSE CONDITIONS

Summary

The component composition of leaf volatile substances of 15 lemon taxa (*Citrus × limon* (L.) Burm.f.), grown in the greenhouses of the Central Botanical Garden of Academy of Sciences of Belarus by GC/MS – methods hardware-assisted «Agilent Technologies 6850 Series II» (Network GC System /5975B (VL MSD) has been researched. There are revealed 22 major leaf volatile substances, which represent the two classes of compounds – hydrocarbons and oxygenated compounds (alcohols, aldehydes and esters). Among the major hydrocarbon compounds found in all taxa of the studied group are monoterpene D-limonene and sesquiterpene β-caryophyllene. Shares of keeping them in total identified leaf volatile substances vary and depend on the genotype of plants. As chemical characteristics of lemon taxa can be proposed the content of oxygenated compounds in leaf volatile components, so as citronellal, geranyl acetate. Among the compounds identified in only one taxon – 3 carene [Bicyclo[4.1.0]hept-3-ene, 3,7,7-trimethyl-] in leaves of *Citrus × limon* 'Interdonato' and beta-elemene [Cyclohexane, 1-ethenyl-1-methyl-2-methylethenyl-] in leaves of *Citrus × meyeri* Ju.Tanaka.