

АРОМАТИЧЕСКИЕ И ЛЕКАРСТВЕННЫЕ РАСТЕНИЯ

УДК 633.81:547.913

**ЛЕТУЧИЕ ВЕЩЕСТВА ДИСТИЛЛЯЦИОННЫХ ВОД (ГИДРОЛАТОВ)
ПРЕДСТАВИТЕЛЕЙ РОДА *THYMUS* L.****Ирина Анатольевна Федотова¹, Анфиса Евгеньевна Палий¹,
Оксана Михайловна Шевчук¹, Светлана Анатольевна Приходько²**¹ Никитский ботанический сад – Национальный научный центр
298648, Республика Крым, г. Ялта, пгт. Никита, спуск Никитский, 52² Донецкий ботанический сад,
283023, г. Донецк, проспект Ильича, 110
E-mail: iaflab2016@mail.ru

Приведены данные эксперимента по определению компонентного состава эфирных масел, а также содержания летучих, водорастворимых соединений в гидролатах, полученных методом перегонки с водяным паром при переработке эфиромасличного сырья трех видов рода *Thymus* L. из коллекции Донецкого ботанического сада. Выявлено содержание в гидролатах, соответствующих эфирным маслам летучих гидрофильных соединений: монотерпеновых и сесквитерпеновых спиртов, фенолов, альдегидов. Основным компонентом в гидролате *Thymus serpyllum* L. является терпеновый спирт гераниол с содержанием 204 мг/л. Доминирующими компонентами эфирного масла и гидролата *Thymus graniticus* Klokov & Des.-Shost. являются карбонильные соединения-(Z)-цитраль (нераль) и (E)-цитраль (гераниаль) с содержанием 29,65% и 40,85% соответственно. В гидролате их содержание 60мг/л и 72мг/л соответственно. В эфирном масле и в гидролате *Thymus marschallianus* Willd. идентифицированы монотерпеновый фенол – тимол (25,12%) и его изомер карвакрол (16,40%), которые содержатся и в гидролате: 296мг/л и 16,4мг/л соответственно.

Ключевые слова: гидролат; *Thymus serpyllum*; *Thymus graniticus*; *Thymus marschallianus*; монотерпеновые и сесквитерпеновые спирты; монотерпеновые фенолы; альдегиды

Введение

Гидролаты (цветочные воды, ароматические воды, гидрозоль, флорентийская вода) представляют собой водные растворы, полученные путём конденсации паров при паровой дистилляции или гидродистилляции растительного сырья в процессе получения эфирных масел [8, 18].

Изучение компонентного состава эфирных масел и гидролатов имеет важное прикладное значение и является основой для определения перспектив использования их в различных отраслях. Благодаря своим биологическим свойствам гидролаты используются в пищевой, парфюмерно-косметической промышленности, ароматерапии, а также в сельском хозяйстве в качестве инсектицидов и дезинфицирующих средств [7, 14-16].

Содержащиеся в эфирном масле производные терпенов: спирты, фенольные и карбонильные соединения – растворимы в воде. Часть этих соединений в процессе обработки эфирномасличного сырья водяным паром и конденсации остаётся в водной фракции. Для получения водорастворимой фракции, дистиллят собирают и экстрагируют органическим растворителем. Терпеновые соединения обладают хорошим сродством к неполярным органическим растворителям, таким как гексан [2, 9]. Состав гидролатов отличается от состава соответствующих эфирных масел. В эфирных маслах присутствует фракция нерастворимых в воде монотерпеновых и сесквитерпеновых соединений [10]. Низшие органические кислоты содержатся в том или ином количестве в тканях растений. В процессе воздействия водяного пара на растительный материал

некоторое количество кислот уносится и конденсируется с дистилляционными водами. Органические кислоты растворимы в воде за счёт присутствия функциональной карбоксильной группы. Это объясняет кислую реакцию среды гидролатов ($\text{pH} < 7$)

Каждый гидролат – уникальный продукт, так как его состав зависит от множества факторов: содержания компонентов в эфиромасличном сырье, способа получения, кинетики процесса. Плотность гидролатов близка к 1. Содержание летучих, растворимых в воде соединений в гидролате по литературным данным не превышает 1%, поэтому анализ гидролатов предполагает стадию предварительного концентрирования.

Использование гидролатов, ранее представлявших собой побочный продукт при получении натуральных эфирных масел, является экономически выгодным вследствие рационального подхода к процессу переработки эфиромасличных растений. По своей сути такое производство является замкнутым циклом и решает экологические проблемы переработки отходов эфиромасличной отрасли [15].

Цель проводимых исследований – сравнительный анализ компонентного состава эфирных масел и летучих гидрофильных веществ гидролатов трёх видов *Thymus*.

Объекты и методы исследования

Объектом исследования служило растительное сырье *Thymus serpyllum* L., *Thymus graniticus* Klokov & Des.-Shost, *Thymus marschallianus* Willd., собранное в фазе массового цветения с коллекционных участков ФГБНУ ДБС (г. Донецк). Эфирные масла и гидролаты были получены из воздушно-сухого сырья исследуемых видов методом перегонки с водяным паром на аппарате Клевенджера [4].

Летучие гидрофильные соединения из гидролатов извлекали методом жидкостно – жидкостной экстракции (LLE) с использованием гексана в качестве растворителя и последующим концентрированием, полученной гексановой фракции [1, 9]. Для этого необходимый объём пробы гидролата (100-200 мл) помещали в делительную воронку и проводили 3-х кратную экстракцию, используя на каждом этапе 5 мл гексана. Время экстракции 10 мин. После отстаивания отделяли и доводили объединённый экстракт до фиксированного объёма. В полученный гексановый экстракт добавляли внутренний стандарт в определённой концентрации.

Компонентный состав летучих веществ гидролатов и эфирных масел определяли методом газовой хромато-масс-спектрометрии на хроматографе «Хроматэк-Кристалл 5000.2», оснащённом масс-спектрометрическим детектором «Хроматэк-Кристалл». Колонка капиллярная CR-5ms, длина 30 м, внутренний диаметр 0,25 мм. Фаза 5% фенил 95% полисилфениленсилоксан, толщина плёнки 0,25 мкм. Температура термостата программировалась от 75°C до 240°C со скоростью 4°C /мин. Для выполнения газохроматографического разделения в испаритель хроматографа, нагретый до 250°C, вводили 0,2 мкл эфирного масла или 1 мкл гексанового экстракта в режиме Split. Газ носитель – гелий, скорость потока 1 мл /мин. Температура переходной линии 250°C. Температура источника ионов 200°C. Масс-спектры регистрировались при ионизации электронным ударом с энергией ионизирующих электронов 70eV. Длительность скана 0,2 с. Диапазон сканирования 20 – 450Da. Идентификация выполнялась на основе сравнения полученных масс-спектров с данными библиотеки NIST' 14 (Национальный Институт Стандартов и Технологий, США) и на основе рассчитанных индексов удерживания. Программа поиска и идентификации спектров MS Search (США). Индексы удерживания получены путём логарифмической интерполяции приведённых времён удерживания с использованием аналитического стандарта смеси реперных *n*-алканов Sigma-Aldrich и аналитических стандартов Supelco [5].

Расчет выполнен на основании измерения площадей пиков определяемых веществ и внутреннего стандарта на хроматограммах полного ионного тока (TIC) [6].

Компонентный состав эфирных масел определяли методом процентной нормализации, предполагая, что коэффициент отклика детектора равен 1 [11]. Содержание определяемого компонента в концентрированном экстракте пересчитывали на 1 л гидролата.

Результаты исследования

В результате изучения компонентного состава летучих веществ эфирных масел и соответствующих гидролатов из растительного сырья трех видов *Thymus* установлено, что в гидролатах содержатся основные гидрофильные компоненты эфирных масел, гидрофобные соединения не обнаружены (табл. 1, рис. 1)

Таблица 1

Содержание летучих веществ, идентифицированных в эфирных маслах (ЕО%) и гидролатах (Н мг/л) представителей рода *Thymus* L.

	Компонент*	RI	<i>T. serpyllum</i>		<i>T. graniticus</i>		<i>T. marschallianus</i>	
			ЕО (%)	Н (мг/л)	ЕО (%)	Н (мг/л)	ЕО (%)	Н (мг/л)
1	2	3	4	5	6	7	8	9
1	Methyl isovalerate	773	-	-	-	-	0,18	-
2	α -Thujene	933	-	-	-	-	2,15	-
3	α -Pinene	943	-	-	0,16	-	1,04	-
4	Camphene	959	-	-	0,28	-	0,60	-
5	1-Octen-3-ol	976	0,42	-	0,72	1,7	0,89	-
6	Sulcatone	980	-	-	0,46	2,5	-	-
7	3-Octanone	981	0,17	-	-	-	0,28	-
8	β -Pinene	985	-	-	0,21	-	0,41	-
9	β -Myrcene	989	-	-	0,66	-	1,35	-
10	3-Octanol	992	1,48	0,68	0,72	-	0,09	-
11	α -Phellandrene	1010	-	-	-	-	0,26	-
12	α -Terpinene	1022	-	-	-	-	3,33	-
13	p-Cymene	1030	-	-	0,14	-	24,72	-
14	Limonene	1035	-	-	0,11	-	0,61	-
15	1,8-Cineole	1037	0,37	0,6	2,88	6,7	2,08	-
16	(Z)-Ocimene	1048	-	-	0,57	-	0,24	-
17	γ -Terpinene	1066	-	-	-	-	23,03	-
18	cis-Sabinene hydrate	1073	0,09	-	0,15	-	1,57	-
19	α -Terpinolen	1091	-	-	-	-	0,13	-
20	Rosefuran	1092	-	-	0,51	-	-	-
21	Linalool	1097	0,61	0,74	-	-	0,21	-
22	trans-Sabinene hydrate	1102	-	-	-	-	0,28	-
23	Perillene	1098	-	-	0,23	-	-	-
24	Isocitral	1142	-	-	0,28	-	-	-
25	Camphor	1150	0,18	-	2,43	4,3	0,17	-
26	Isoneral	1160	0,06	-	1,17	-	-	-
27	Rosefuran epoxide	1170	0,14	-	0,98	-	-	-
28	Borneol	1175	2,19	3,1	0,06	-	1,22	-
29	Isogeranial	1177	0,12	-	1,95	-	-	-
30	Terpinen-4-ol	1182	0,16	-	0,12	-	0,51	-
31	α -Terpineol	1194	0,12	-	-	-	0,28	-
32	α -Cyclogeraniol	1207	-	-	0,30	-	-	-
33	Nerol	1226	2,53	3,3	1,96	3,8	-	-
34	Methylthymol	1231	-	-	-	-	2,29	-
35	(Z)-Citral	1237	2,25	0,57	29,65	60	-	-
36	Carvone	1246	-	-	0,06	-	0,15	-
37	Geraniol	1255	76,39	204	0,32	-	-	-
38	(E)-Citral	1269	3,25	0,56	40,85	72	-	-
39	Bornyl acetate	1287	-	-	0,10	-	-	-
40	Thymol	1291	0,12	0,48	0,19	-	25,12	296
41	Neryl formyate	1296	0,15	-	-	-	-	-
42	Carvacrol	1298	0,11	0,34	-	-	1,77	16,4
43	Neryl acetate	1357	0,90	-	1,01	-	-	-
44	Geranyl acetate	1376	2,41	-	2,39	-	-	-
45	α -Copaene	1382	-	-	-	-	0,09	-
46	β -Bourbonene	1390	0,23	-	0,66	-	-	-
47	β -Elemen	1393	-	-	0,12	-	-	-
48	β -Caryophyllene	1427	1,56	-	0,57	-	2,09	-
49	β -Copaene	1437	-	-	0,10	-	-	-
50	Aromadendrene	1447	-	-	0,13	-	0,13	-
51	γ -Muurolene	1481	-	-	0,09	-	0,19	-
52	Germacrene D	1487	1,71	-	1,82	-	0,07	-
53	Bicyclogermacren	1501	0,49	-	0,20	-	-	-

Продолжение таблицы 1

54	β -Bisabolene	1510	0,79	-	-	-	-	-
55	δ -Cadinene	1525	0,07	-	0,12	-	0,28	-
56	α -Bisabolene	1544	-	-	-	-	0,95	-
57	Spathulenol	1581	0,31	1,2	2,48	3,6	0,34	-
58	Caryophyllene oxide	1586	0,39	-	0,66	-	0,40	-
59	Spathulenol	1639	-	-	0,21	-	-	-
60	Shyobunol	1699	-	-	0,41	-	0,07	-

Примечание: Компоненты с относительным содержанием $\leq 0,1\%$ не указаны

Доминирующий компонент эфирного масла *T. serpyllum* – терпеновый спирт гераниол с содержанием в эфирном масле – 76,39%. Также в составе эфирного масла обнаружены карбонильные соединения – (Z)-цитраль (нераль) и (E)-цитраль (гераниаль) и спирты: нерол – изомер гераниола, борнеол, спатуленол, которые идентифицированы и в гидролате. Основным компонентом в гидролате является гераниол с содержанием 204 мг/л.

Доминирующими компонентами эфирного масла и гидролата *T. graniticus* являются карбонильные соединения-(Z)-цитраль (нераль) и (E)-цитраль (гераниаль) с содержанием 29,65% и 40,85% соответственно в эфирном масле, и 60 мг/л и 72 мг/л соответственно в гидролате.

В эфирном масле и в гидролате *T. marschallianus* идентифицированы монотерпеновый фенол – тимол с содержанием 25,12% и его изомер карвакрол 1,77%, которые содержатся и в гидролате: 296 мг/л и 16,4 мг/л соответственно.

Зачастую исследования компонентного состава летучих веществ гидролатов по аналогии с исследованием эфирных масел сводятся к определению содержания компонентов методом нормализации, после извлечения компонентов в процессе пробоподготовки и удаления растворителя [12].

Однако, анализ гидролата отличается от анализа эфирного масла, так как гидролат - это раствор. В нашем исследовании концентрацию летучих гидрофильных веществ в гидролатах определяли в миллиграммах, содержащихся в 1 литре раствора. Именно в этом случае будет известно содержание каждого компонента в растворе в абсолютных единицах, а не в процентах к общему содержанию растворённых в гидролате летучих веществ [13].

Анализ гидролатов основан на концентрировании проб методом жидкостно-жидкостной экстракции (LLE), так как при анализе методом GC-MS не рекомендуется использовать прямой ввод водных растворов в испаритель хроматографа, это связано со свойствами неподвижной фазы хроматографической колонки. Анализируемый материал должен быть достаточно концентрированным [1-2, 3].

Анализируемые соединения (аналиты) экстрагируются из исходного растворителя и переносятся в другой растворитель с оптимальными химическими и физическими свойствами с учетом последующей обработки. Зная, что соединения, как правило, легче растворяются в растворителях со свойствами, аналогичными свойствам самого соединения можно выбрать подходящий тип растворителя. Летучие органические молекулы гидролатов (монотерпеновые спирты, карбонильные соединения, оксиды, фенольные соединения и т.д.) умеренно полярны и окружены сильнополярным растворителем (водой). Выбор умеренно или слабополярного органического растворителя является оптимальным. Органический растворитель для LLE выбирается с учетом следующих характеристик: высокая чистота для минимизации загрязнения образца, низкая растворимость в воде (<10%), летучесть для легкого удаления и концентрации после экстракции. В соответствии с теоретическими основами процесса 3-х кратная жидкостно-жидкостная экстракция органическим растворителем позволяет практически полностью извлечь из водной фазы летучие гидрофильные соединения.

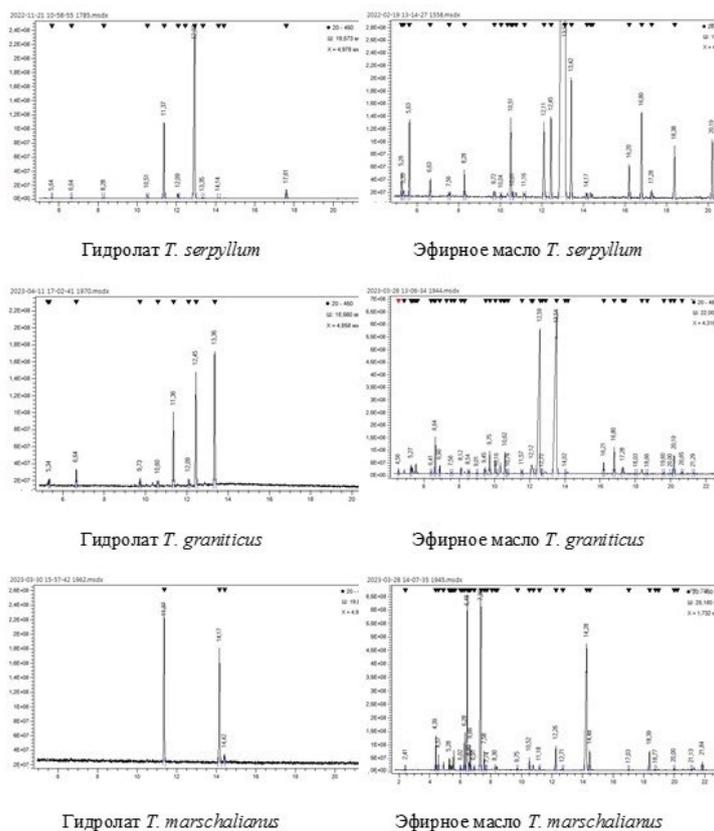


Рис. 1 Хроматограммы гидролатов и эфирных масел представителей рода *Thymus* L.

Таким образом, получается более концентрированный раствор гидрофильных компонентов эфирного масла в органическом растворителе, аликвота которого с добавленным стандартным веществом с известной концентрацией (внутренний стандарт) направляется в испаритель газового хроматографа для анализа методом газовой хроматографии с масс-спектрометрическим детектированием (GC-MS). Внутренний стандарт должен отсутствовать в анализируемом образце, оптимальным вариантом является использование схожих по физико-химическим свойствам веществ.

Сравнительный анализ компонентного состава летучих веществ гидролатов и эфирных масел из растительного сырья представителей рода *Thymus* показал, что, в отличие от эфирных масел, в гидролатах присутствуют только гидрофильные соединения. Так как доминирующими компонентами эфирных масел являются гидрофильный спирт гераниол (*T. serpyllum*), монотерпеновый фенол тимол (*T. marschalianus*) и альдегиды (Z)-цитраль и (E)-цитраль (*T. graniticus*), то и в гидролатах данные вещества представлены в максимальных количествах. Наличие в этих соединениях функциональных гидроксильных и карбонильных групп обуславливает растворимость их в воде.

Также следует отметить, что гераниол, имеющий запах цветков розы и изомеры цитраля с лимонным запахом, полученные из эфиромасличных растений, являются ценными компонентами для парфюмерно-косметической индустрии, в особенности для создания органической косметики и парфюмерии, без использования синтетических душистых веществ в составе. Тимол обладая антибактериальными и фунгицидными свойствами представляет интерес для фармакологии. Таким образом, изученные гидролаты *T. serpyllum*, *T. graniticus*, *T. marschalianus* перспективны для включения в

замкнутый цикл переработки эфирно-масличного сырья чабреца и могут быть использованы при создании продукции полезной для человека.

Выводы

Применение метода газовой хроматографии с масс-спектрометрическим детектированием (GC-MS) в сочетании с пробоподготовкой жидкостно-жидкостной экстракцией (LLE) позволяет проводить идентификацию основных компонентов гидролатов. Метод внутреннего стандарта позволяет провести полуколичественную оценку содержания летучих гидрофильных компонентов в гидролате. Количественно содержание компонентов необходимо определять, используя метод абсолютной градуировки и стандартные образцы идентифицированных веществ. Исследование летучих веществ представителей рода *Thymus*, с применением указанных методов, показали, что в гидролатах содержатся только летучие гидрофильные терпеновые спирты и/или альдегиды, а доминирующие компоненты эфирных масел и гидролатов совпадают.

Представляет интерес изучение влияния метода (паровая дистилляция или гидродистилляция) на состав извлекаемых эфирных масел и гидролатов, в зависимости от приоритета определённого продукта.

Благодарности

Исследования выполнены на оборудовании ЦКП «Физиолого-биохимические методы исследования растительных объектов» ФГБУН «НБС – ННЦ» (Ялта, Россия)

Список литературы

1. Акимов Ю.А. Методические рекомендации по изучению летучих веществ растений, Ялта: ГНБС. – 1983. – 24с.
2. Дженнингс В., Рипп А. Подготовка образцов для газо-хроматографического анализа. – М: Мир. – 1986. – 120 с.
3. Ткачев А.В. Исследование летучих веществ растений. – Новосибирск: «Офсет», 2008. – 969 с.
4. Шевчук О.М., Исиков В.П., Логвиненко Л.А. / под ред. Плугатаря Ю.В. Методологические и методические аспекты интродукции и селекции ароматических и лекарственных растений. – Симферополь: ИТ «Ариал», 2022. – 140 с.
5. Adams R.P. Identification of essential oil compounds by gas chromatography/quadrupole mass spectroscopy. – USA: Allured Pub. Corp., 2007. – 804 p.
6. Adams R.P. Systematics of the one seeded *Juniperus* of the eastern hemisphere based on leaf essential oils and random amplified polymorphic DNAs (RAPDs) // Biochemical Systematics and Ecology. – 2000. – Vol. 28 – P. 529-543.
7. Burt S. Essential oils: their antibacterial properties and potential application in foods – a review // Int. J. Food Microbiol. – 2004. – Vol. 94 (3) – P. 223-53. DOI: 10.1016/j.ijfoodmicro.2004.03.022.
8. European Pharmacopoeia, 6th edn. EDQM (Council of Europe) (2008).
9. Francezon N., Stevanovic T. Chemical composition of essential oil and hydrosol from *Picea mariana* Bark Residue // Bioresources. – 2017. – № 12 (2). – P. 2635-2645.
10. Garneau F.-X., Collin G., Gagnon H. Chemical composition and stability of the hydrosols obtained during essential oil production. II. The case of *Picea glauca* (Moench) Voss., *Solidago puberula* Nutt., and *Mentha piperita* L. // American Journal of Essential Oils and Natural Products. – 2014. – Vol. 2 (1). – P. 29-35.
11. IOFI Working Group on Methods of Analysis Guidelines for the quantitative gas chromatography of volatile flavouring substances, from the Working Group on Methods of

Analysis of the International Organization of the Flavor Industry (IOFI) // Flavour and Fragrance Journal. – 2011. – Vol. 26. – № 5. – P. 297-299. DOI: 10.1002/ffj.2061

12. Jeannot V., Chahboun J., Russell D., Baret P. Quantification and determination of chemical composition of the essential oil extracted from natural orange blossom water (*Citrus aurantium* L. ssp. *aurantium*) // The International Journal of Aromatherapy. – 2005. – Vol. 15 (2). – P. 94-97. DOI: 10.1016/j.ijat.2005.03.012

13. Ohtsu N., Kohari Y., Gotoh M., Yamada R., Nagata Y., Murata M. Utilization of the Japanese peppermint herbal water byproduct of steam distillation as an antimicrobial agent // Journal of Oleo Science. – 2018. – № 67 (10). – P. 1227-1233. DOI: 10.5650/jos.ess18049.

14. Paolini J., Leandri C., Desjober J.-M., Barboni T., Costa J. Comparison of liquid-liquid extraction with headspace methods for the characterization of volatile fractions of commercial hydrolats from typically Mediterranean species // J. Chromatogr. A. – 2008. – Vol. 1193. – P. 37-49.

15. Politi M., Menghini L., Conti B., Bedini S., Farina P., Cioni P.L., Braca A., De Leo M. Reconsidering hydrosols as main products of aromatic plants manufactory: the Lavandin (*Lavandula × intermedia*) case study in Tuscany // Molecules. – 2020. – № 25. – P. 2225. DOI: 10.3390/molecules25092225.

16. Popa C.L., Lupitu A., Mot M.D., Copolovici L., Moisa C., Copolovici D.M. Chemical and biochemical characterization of essential oils and their corresponding hydrolats from six species of the Lamiaceae family // Plants. – 2021. – Vol. 10(11). – P. 2489. DOI: 10.3390/plants10112489

17. Rajeswara Rao. B.R. Hydrosols and water – soluble essential oils: Medicinal and biological properties // Recent progress in medicinal plants. – 2013 – Vol. 36 – P. 119-140.

18. Rubiolo P., B. Sgorbini, E. Liberto, C. Cordero, Bicchi C. Essential oils and volatiles: sample preparation and analysis. A review. // Flavour and Fragrance Journal. – 2010. – Vol. 25. – P. 282-290. DOI: 10.1002/ffj.1984

Статья поступила в редакцию 11. 06. 2024 г.

Fedotova I.A., Paliy A.E., Shevchuk O.M., Prihodko S.A. Volatile substances of distillate waters (hydrolates) of some species of the genus *Thymus* L. // Bull. of the State Nikita Botan. Gard. – 2024. – № 151 – P. 93-99

The paper presents the data of an experiment to determine the component composition of essential oils, as well as the content of volatile, water-soluble compounds in hydrolates obtained by steam distillation during the processing of essential oil raw materials of three species of the genus *Thymus* L. from the collection of the Donetsk Botanical Garden. The content of volatile hydrophilic compounds in hydrolates corresponding to essential oils was revealed: monoterpene and sesquiterpene alcohols, phenols, and aldehydes. The dominant component in the hydrolate of *Thymus serpyllum* L. was terpene alcohol geraniol with a content of 204 mg/l. The dominant components of the essential oil and hydrolate of *Thymus graniticus* Klokov & Des.-Shost. were carbonyl compounds (Z)-citral (neral) and (E)-citral (geranial) with a content of 29.65% and 40.85%, respectively. Their content in the hydrolate is 60mg/l and 72mg/l, respectively. In the essential oil and in the hydrolate of *Thymus marschallianus* Willd. monoterpene phenol - thymol (25.12%) and its isomer carvacrol (16.40%) were identified; they were also found in the hydrolate: 296 mg/l and 16.4mg/l, respectively.

Key words: hydrolate; *Thymus serpyllum*; *Thymus graniticus*; *Thymus marschallianus*; monoterpene and sesquiterpene alcohols; monoterpene phenols; aldehydes