

УДК 630.187.1+630.551.52

С. А. Ламоткин, Т. И. Ахрамович, А. В. Сакович, Д. А. Будковская  
Белорусский государственный технологический университет

### ИССЛЕДОВАНИЕ СОСТАВА И АНТИМИКРОБНОЙ АКТИВНОСТИ ЭФИРНЫХ МАСЕЛ РЯДА ХВОЙНЫХ ПОРОД ДЕРЕВЬЕВ

На территории естественных лесных массивов с деревьев сосны обыкновенной (*Pinus sylvestris* L.), ели европейской (*Picea abies* (L.) Karst.) и ели канадской (*Picea glauca*) отобраны образцы древесной зелени в зимний и летний период. Отбор образцов древесной зелени с хвойных насаждений производился в экологически чистой зоне и на территории, загрязненной токсичными элементами. Из всех отобранных образцов было выделено эфирное масло, содержание которого существенно зависело от времени и места отбора образцов. Методом спектроскопии ЯМР и газожидкостной хроматографии выполнен анализ группового состава масел и измерено содержание  $\alpha$ -пинена, 3-карена, камфена, лимонена, 1,8-цинеола и камфоры как основных соединений в эфирных маслах. Установлено, что состав масел существенно зависит от места и времени отбора образцов. Диффузионным методом проведена оценка антибактериальной активности эфирных масел. Показано, что антимикробные свойства эфирных масел существенно зависят от их компонентного состава. Даны рекомендации по практическим аспектам заготовки древесной зелени и использованию эфирных масел.

**Ключевые слова:** сосна обыкновенная (*Pinus sylvestris* L.), ель европейская (*Picea abies* (L.) Karst.), ель канадская (*Picea glauca*), эфирное масло, состав, антимикробная активность.

**Для цитирования:** Ламоткин С. А., Ахрамович Т. И., Сакович А. В., Будковская Д. А. Исследование состава и антимикробной активности эфирных масел ряда хвойных пород деревьев // Труды БГТУ. Сер. 2, Химические технологии, биотехнологии, геоэкология. 2021. № 2 (247). С. 94–99.

S. A. Lamotkin, T. I. Akhramovich, A. V. Sakovich, D. A. Budkovskaya  
Belarusian State Technological University

### STUDY OF COMPOSITION AND ANTIMICROBIAL ACTIVITY OF ESSENTIAL OILS OF A SERIES OF CONIFEROUS TREES

Samples of the woody greens of Scots pine (*Pinus sylvestris* L.), Norway spruce (*Picea abies* (L.) Karst.) and White spruce (*Picea glauca*) were selected from trees in the natural forest areas in winter and summer. Sampling of green wood from coniferous plants was carried out in an ecologically clean zone and on the territory contaminated with toxic elements. Essential oil was allocated from all the taken samples, the content of which significantly depended on the time and place of sampling. Using the methods of NMR spectroscopy and gas-liquid chromatography, the group composition of the oils was analyzed and the contents of  $\alpha$ -pinene, 3-karen, camphene, limonene, 1,8-cineole, and camphor, as the main compounds in essential oils, were measured. It was established that the composition of the oils substantially depends on the place and time of sampling. The antibacterial activity of essential oils was evaluated with the diffusion method. It is shown that the antimicrobial properties of essential oils significantly depend on their component composition. Recommendations are given on the practical aspects of the harvesting of woody greens and using of essential oils.

**Key words:** Scots pine (*Pinus sylvestris* L.), Norway spruce (*Picea abies* (L.) Karst.), White spruce (*Picea glauca*), essential oil, composition, antimicrobial activity.

**For citation:** Lamotkin S. A., Akhramovich T. I., Sakovich A. V., Budkovskaya D. A. Study of composition and antimicrobial activity of essential oils of a series of coniferous trees. *Proceedings of BSTU, issue 2, Chemical Engineering, Biotechnologies, Geoecology*, 2021, no. 2 (247), pp. 94–99 (In Russian).

**Введение.** Эфирные масла хвойных растений обладают высокими бактерицидными свойствами, играют важную роль в очищении воздуха от болезнетворных микроорганизмов, в охране здоровья человека и оптимизации его среды обитания [1]. Экспериментально доказано, что антибактериальное действие эфирных масел распространяется практически на все

группы микроорганизмов [2]. Антимикробная активность эфирных масел различных хвойных растений широко изучается учеными России, Латвии, Турции, Румынии и Канады [3, 4].

Леса Республики Беларусь состоят на 59,8% из хвойных пород деревьев [5], при этом наиболее распространенным видом является сосна обыкновенная (*Pinus sylvestris* L.) и ель евро-

пейская (*Picea abies* (L.) Karst.). Кроме того, на территории Республики Беларусь произрастают интродуцированные виды растений, в частности ель канадская (*Picea glauca*).

В связи с вышесказанным целью настоящей работы был сравнительный анализ антимикробной активности эфирных масел ряда хвойных растений в зависимости от условий их произрастания и времени заготовки хвои.

**Основная часть.** В качестве объекта исследования были выбраны эфирные масла, полученные из хвои деревьев сосны обыкновенной (*Pinus sylvestris* L.), ели европейской (*Picea abies* (L.) Karst.) и ели канадской (*Picea glauca*). Деревья произрастали в условиях урбанизированной среды (образцы 1, 2) и на экологически чистой территории (образцы 3, 4). Кроме того, образцы отбирали в зимний (образцы 1, 3) и летний (образцы 2, 4) периоды времени. Хвою для каждого образца отбирали с различных рядом растущих 10 деревьев и получали усредненный образец. Выделение эфирного масла осуществляли методом гидродистилляции, а количественный выход определяли волюметрически. Полученные данные по содержанию эфирного масла были пересчитаны с учетом влажности сырья на абсолютно сухую массу (а. с. м.).

Качественный и количественный анализ состава масел осуществляли методами газожидкостной хроматографии (ГЖХ) без предварительного фракционирования и спектроскопии ЯМР. Хроматографический анализ выполняли на хроматографе «Кристалл 5000.1» с использованием кварцевой капиллярной колонки длиной 60 м с нанесенной фазой 100% диметилсилоксаном. Запись спектров ЯМР проводили на спектрометре AVANCE-500 (Германия) с рабочими частотами для ядер  $^1\text{H}$  и  $^{13}\text{C}$  – 500 и 125 МГц соответственно. Совместное использование этих методов показало хорошую согласованность полученных результатов в пределах относительной ошибки измерения [6].

Уровень загрязненности древесной зелени хвойных растений оценивали по содержанию в

хвое токсичных элементов Pb, Cd, Cu, Co, Ni, Mn, Cr, S методами нефелометрии и атомно-абсорбционного анализа [7, 8].

Антибактериальную активность эфирных масел определяли диффузионным методом (метод бумажных дисков). Принцип метода основан на диффузии антимикробных агентов в агар и определении диаметра зон ингибирования роста тест-культур бактерий на агаризованной среде, формирующихся под действием диффундирующих в среду веществ, обладающих антимикробной активностью [9]. Определение антибактериальной активности эфирных масел проводили с использованием 6 санитарно-показательных микроорганизмов.

Хорошо известно, что на характеристики эфирного масла оказывают влияние условия произрастания и, в частности, загрязнение хвои токсичными элементами [10, 11]. В связи с этим необходимо отметить, что образцы исследуемых растений 1 и 2 были отобраны на территориях с высоким уровнем промышленных загрязнений. Содержание таких токсичных элементов, как Pb и S, было соответственно на уровне 0,2 и 100 мг/100 г абсолютно сухой массы сырья. Это примерно в 5 раз по Pb и 1,5 раза по S превышает содержание этих элементов в образцах 3 и 4, отобранных в экологически чистых районах.

Содержание эфирного масла в хвое растений, произрастающих в экологически чистых районах (образцы 3 и 4), в первую очередь зависит от времени заготовки сырья. Так, содержание эфирного масла в зимний период в хвое сосны около 2,0, ели европейской 0,4 и ели канадской 2,3% а. с. м. Содержание в летние месяцы снижается на 15–20%. Количество эфирного масла в образцах 1 и 2 для всех видов растений в 1,5–2 раза ниже, чем в образцах 3 и 4. Приведенные результаты хорошо согласуются с данными, полученными ранее [10].

Существенные отличия наблюдаются в групповом составе масел и в содержании основных компонентов (табл. 1).

Таблица 1

Групповой состав и содержание основных компонентов эфирных масел хвойных растений

Хвойные растения	№ образца	Групповой состав и содержание основных компонентов, %								
		$\alpha$ -Пинен	3-Карен	Камфен	Лимонен	1,8-Цинеол	Камфора	Монотерпены	Кислород-содержащие терпены	Сесквитерпены
Сосна обыкновенная ( <i>Pinus sylvestris</i> L.)	1	26,6	6,5	2,9	1,0	–	–	40	3	50
	2	27,2	7,1	3,0	0,8	–	–	40	3	55
	3	18,1	24,5	1,9	2,1	–	–	60	2	30
	4	19,3	25,1	2,1	1,1	–	–	55	2	40

Окончание табл. 1

Хвойные растения	№ образца	Групповой состав и содержание основных компонентов, %								
		$\alpha$ -Пинен	3-Карен	Камфен	Лимонен	1,8-Цинеол	Камфора	Монотерпены	Кислород-содержащие терпены	Сесквитерпены
Ель европейская ( <i>Picea abies</i> (L.) Karst.)	1	7,2	–	18,3	8,8	13,2	1,5	45	45	2
	2	6,8	–	19,1	7,3	15,1	1,1	50	45	2
	3	10,1	–	13,1	15,2	7,5	3,0	60	30	3
	4	10,5	–	14,0	14,8	4,2	2,8	55	35	3
Ель канадская ( <i>Picea glauca</i> )	1	1,6	–	6,0	6,9	2,2	20,9	35	60	2
	2	1,4	–	4,2	5,0	6,3	27,0	30	65	2
	3	9,0	–	16,0	4,1	0,9	5,0	45	55	1
	4	8,8	–	18,0	4,0	1,0	4,9	40	60	1

Примечание. Образцы 1, 2 отобраны с территории загрязненной токсичными элементами; 3, 4 – с экологически чистой территории. Образцы 1, 3 отобраны в зимние, 2, 4 – летние месяцы.

Таблица 2

**Результаты определения диаметра зон ингибирования роста тест-культур бактерий растворами эфирных масел (50%-ный раствор эфирного масла в этаноле)**

Хвойные растения	№ образца	Тест-культуры бактерий						
		<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Salmonella enterica</i>	<i>Bacillus subtilis</i>	<i>Clostridium</i> sp.	<i>Escherichia coli</i>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	
Сосна обыкновенная ( <i>Pinus sylvestris</i> L.)	Диаметр зоны ингибирования роста (мм) тест-культур бактерий	1	22	23	21	24	23	22
		2	22	23	22	25	24	23
		3	19	19	17	20	19	18
		4	20	20	18	20	22	19
Ель европейская ( <i>Picea abies</i> (L.) Karst.)	Диаметр зоны ингибирования роста (мм) тест-культур бактерий	1	24	25	27	29	27	29
		2	25	26	28	29	28	27
		3	21	22	24	27	24	26
		4	21	23	25	27	25	26
Ель канадская ( <i>Picea glauca</i> )	Диаметр зоны ингибирования роста (мм) тест-культур бактерий	1	22	23	23	24	24	23
		2	23	23	24	26	25	24
		3	20	20	21	21	22	20
		4	20	21	22	23	23	22

Примечание. Образцы 1, 2 отобраны с территории, загрязненной токсичными элементами; 3, 4 – с экологически чистой территории. Образцы 1, 3 отобраны в зимние, 2, 4 – в летние месяцы.

Как видно из табл. 1, основными компонентами эфирного масла сосны являются монотерпеновые и сесквитерпеновые углеводороды. При этом удельный вес этих групп зависит как от времени заготовки образцов, так и от степени загрязненности хвои токсичными элементами. Монотерпены преобладают в образцах, выделенных из загрязненного сырья. Основными компонентами масла являются  $\alpha$ -пинен, камфен, 3-карен и лимонен, суммар-

ное содержание которых может достигать 50%. Следует отметить, что существенно зависит от источника сырья содержание пинена и карена. Так, в образцах 3, 4 преобладает карен, а в образцах 1, 2 –  $\alpha$ -пинен. Как отмечалось ранее, скорее всего, такая тенденция связана с конкурирующими реакциями в процессе биосинтеза данных компонентов. Интересно отметить, что содержание камфена незначительно меняется в условиях эксперимента, что

может указывать на независимый от пинена путь его биосинтеза.

Эфирное масло елей, напротив, богато кислородсодержащими компонентами, а также монотерпеновыми углеводородами. Среди основных компонентов следует особо выделить камфен, лимонен, 1,8-цинеол и камфору. Содержание этих компонентов существенно меняется от времени и места заготовки сырья.

Для образцов 1 и 2 эфирного масла ели европейской возрастает содержание камфена и 1,8-цинеола по сравнению с образцами 3, 4 и снижается содержание лимонена и камфоры.

Для ели канадской, напротив, содержание камфоры в образцах 1, 2 значительно выше, чем в образцах 3, 4, а содержание камфена снижается в образцах 1, 2.

Кроме того, в загрязненных образцах (1, 2) всех видов растений увеличивается содержание кислородсодержащих терпенов.

В табл. 2 приведены результаты определения диаметра зон ингибирования роста тест-культур бактерий растворами эфирного масла. Диаметр зон ингибирования роста тест-культур бактерий приведен с учетом диаметра зоны ингибирования роста бактерий этанолом, значение которого вычитали из первоначального значения диаметра зоны. Как видно, во всех случаях эфирное масло обладает достаточно высокой антибактериальной активностью по отношению ко всем исследованным микроорганизмам. Антибактериальная активность образцов 1 и 2 для

всех видов растений выше, чем для образцов 3 и 4. Интересно отметить, что масла, выделенные в летний период времени (образцы 2 и 4 всех видов растений), демонстрируют несколько более высокую антибактериальную активность по сравнению с образцами, выделенными в зимний период (образцы 1 и 3 всех видов растений).

Такой результат, вероятно, связан с различием в содержании основных компонентов в загрязненных и чистых образцах, а также с более высоким содержанием в «летних» маслах кислородсодержащих терпенов.

Так, для эфирного масла сосны антибактериальная активность связана, скорее всего, с высоким содержанием  $\alpha$ -пинена, антибактериальные свойства которого хорошо изучены авторами работы [12]. Кроме того, в эфирном масле сосны наблюдается высокое содержание кариофиллена, также обладающего антимикробными свойствами [13].

Антибактериальные свойства эфирных масел елей обусловлены высоким содержанием камфары и 1,8-цинеола. Это предположение хорошо согласуется с данными [14].

**Заключение.** Таким образом, исследованные эфирные масла обладают высокой антимикробной активностью, что позволяет рекомендовать их в качестве сырья для производства лекарственных препаратов. Кроме того, при заготовке сырья следует учитывать, что антимикробная активность эфирных масел существенно зависит от семейства хвойных растений, а также от условий произрастания растений.

### Список литературы

1. Гуляев Д. К., Новикова В. В., Белоногова В. Д. Антибактериальная и противогрибковая активность эфирного масла древесной зелени ели обыкновенной и его отдельных фракций // Медицинский альманах. 2015. № 4 (39). С. 213–214.
2. Николаевский В. В. Ароматерапия. Справочник. М.: Медицина, 2000. 305 с.
3. Siksnia S. Coniferous greenery – valuable natural raw material of biologically active substances // Medicines teorija in praktika. 2012. Vol. 18, № 2. P. 146–148.
4. Radulescu V. Chemical composition and antimicrobial activity of essential oil from shoots spruce (*Picea abies* L.) // Revista de chimie. 2011. Vol. 62, № 1. P. 69–74.
5. Мележ В. С. Охрана окружающей среды в Беларуси. Минск: М-во статистики и анализа Респ. Беларусь, 2007. 206 с.
6. Шпак С. И., Ламоткин С. А. Химический состав терпеноидов сосны обыкновенной, произрастающей на территории Беларуси // Труды БГТУ. Сер. IV, Химия и технология орган. в-в. 2007. Вып. XV. С. 272–278.
7. Чудинов Э. Г. Атомно-эмиссионный анализ с индукционной плазмой // Итоги науки и техники. Сер. Аналитическая химия. 1990. Т. 2. С. 243–251.
8. Ринькис Г. Я. Методы анализа почв и растений. Рига: Зинатне, 1987. 196 с.
9. Jirovets L. Analysis of the essential oil volatiles of Douglas fir (*Pseudotsuga menziesii*) from Bulgaria // Chem. Soc. 2000. No. 15. P. 434–437.
10. Сезонная динамика терпеновых углеводов эфирного масла сосны обыкновенной (*Pinus silvestris* L.) / С. А. Ламоткин [и др.] // Труды БГТУ. Сер. 2, Химические технологии, биотехнологии, геоэкология. 2019. № 1. С. 17–24.
11. Попина О. А., Владыкина Д. С., Ламоткин С. А. Вариабельность основных компонентов эфирного масла пихты одноцветной (*Abies concolor*), произрастающей в условиях урбанизированной среды // Весці НАН Беларусі. Сер. хім. навук. 2015. № 1. С. 105–108.

12. Решетников В. Н., Шутова А. Г., Спиридович Е. В. Биологическая активность эфирных масел растений в связи с составом и оптической активностью компонентов // Докл. Нац. акад. наук Беларуси. 2015. Т. 59, № 1. С. 74–79.

13. Копайский бальзам [Электронный ресурс] / Ароматерапевт.ру. URL: <https://aromaterapevt.ru/kopajjskijj-balzam/> (дата обращения: 25.02.2020).

14. Масло эфирное мелалеуки (*Melaleuca*), типа терпинен-4-ол (масло чайного дерева). Технические условия: ГОСТ ISO 4730–2017. Введ. 01.08.2019. Минск: Госстандарт, 2019. 16 с.

### References

1. Gulyaev D. K., Novikova V. V., Belonogova V. D. Antibacterial and antifungal activity of the essential oil of common spruce greenery and its individual fractions. *Meditinskiy al'manakh* [Medikal almanakh], 2015, no. 4 (39), pp. 213–214 (In Russian).

2. Nikolaevsky V. V. *Aromaterapiya. Spravochnik* [Aromatherapy. Directory]. Moscow, Meditsina Publ., 305 p.

3. Siksnas S. Coniferous greenery – valuable natural raw material of biologically active substances. *Medicines teorija in praktika*, 2012, vol. 18, no. 2, pp. 146–148.

4. Radulescu V. Chemical composition and antimicrobial activity of essential oil from shoots spruce (*Picea abies* L.). *Revista de chimie*, 2011, vol. 62, no. 1, pp. 69–74.

5. Melezh V. S. *Okhrana okruzhayushchey sredy v Belarusi* [Environmental protection in Belarus]. Minsk, Ministerstvo statistiki i analiza Respubliki Belarus' Publ., 2007. 206 p.

6. Shpak S. I., Lamotkin S. A. The chemical composition of terpenoids of Scots pine, which grows on the territory of Belarus. *Trudy BGTU* [Proceedings of BSTU], series IV, Chemistry and Technology of Organic Substances, 2007, issue XV, pp. 272–278 (In Russian).

7. Chudinov E. G. Atomic emission analysis with induction plasma. *Itogi nauki i tekhniki. Ser. Analiticheskaya khimiya* [Results of science and technology. Ser. Analytical chemistry], 1990, vol. 2, pp. 243–251 (In Russian).

8. Rin'kis G. Ya. *Metody analiza pochv i rasteniy* [Methods of soil and plant analysis]. Riga, Zinatne Publ., 1987. 196 p.

9. Jirovetz L. Analysis of the essential oil volatiles of Douglas fir (*Pseudotsuga menziesii*) from Bulgaria. *Chem. Soc.*, 2000, no. 15, pp. 434–437.

10. Lamotkin S. A., Skakovskij E. D., Mekhanikova E. G., Gil E. V., Romanyuk L. I. Season dynamics terpene hydrocarbons of Scots pine (*Pinus sylvestris* L.) essential oil. *Trudy BGTU* [Proceedings of BSTU], series 2, Chemical Engineering, Biotechnologies, Geoecology, 2019, no. 1, pp. 17–24 (In Russian).

11. Popina O. A., Vladykina D. S., Lamotkin S. A. Variability of the main components of the plain fir essential oil (*Abies concolor*), growing in an urban environment. *Vesti NAN Belarusi* [News of NAC of Belarus], Chemical Sciences, 2015, no. 1, pp. 105–108 (In Russian).

12. Reshetnikov V. N., Shutova A. G., Spiridovich E. V. The biological activity of plant essential oils in connection with the composition and optical activity of the components. *Doklady Natsional'noy akademii nauk Belarusi* [Reports of National Academy of Sciences of Belarus], 2015, vol. 59, no. 1, pp. 74–79 (In Russian).

13. *Kopayskiy bal'zam* [Copaiba]. Available at: <https://aromaterapevt.ru/kopajjskijj-balzam> (accessed 25.02.2020).

14. GOST ISO 4730–2017. Essential Oil of Melaleuca, terpinen-4-ol type (Tea Tree oil). Minsk, Gosstandart Publ., 2019. 16 p. (In Russian).

### Информация об авторах

**Ламоткин Сергей Александрович** – кандидат химических наук, доцент, доцент кафедры физико-химических методов сертификации продукции. Белорусский государственный технологический университет (220006, г. Минск, ул. Свердлова, 13а, Республика Беларусь). E-mail: [jossby@rambler.ru](mailto:jossby@rambler.ru)

**Ахрамович Татьяна Игоревна** – кандидат биологических наук, доцент, доцент кафедры биотехнологии. Белорусский государственный технологический университет (220006, г. Минск, ул. Свердлова, 13а, Республика Беларусь). E-mail: [ahramovich@belstu.by](mailto:ahramovich@belstu.by)

**Сакович Анна Викторовна** – студент. Белорусский государственный технологический университет (220006, г. Минск, ул. Свердлова, 13а, Республика Беларусь). E-mail: [annasakovich1@gmail.com](mailto:annasakovich1@gmail.com)

**Будковская Дарья Александровна** – студент. Белорусский государственный технологический университет (220006, г. Минск, ул. Свердлова, 13а, Республика Беларусь). E-mail: dbudkovskaya@gmail.com

#### **Information about the authors**

**Lamotkin Sergej Aleksandrovich** – PhD (Chemistry), Associate Professor, Assistant Professor, the Department of Physical-Chemical Methods for Products Certification. Belarusian State Technological University (13a, Sverdlova str., 220006, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: jossby@rambler.ru

**Akhramovich Tatyana Igorevna** – PhD (Biological), Associate Professor, Assistant Professor, the Department of Biotechnology. Belarusian State Technological University (13a, Sverdlova str., 220006, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: ahramovich@belstu.by

**Sakovich Anna Viktorovna** – student. Belarusian State Technological University (13a, Sverdlova str., 220006, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: annasakovich1@gmail.com

**Budkovskaya Daria Aleksandrovna** – student. Belarusian State Technological University (13a, Sverdlova str., 220006, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: dbudkovskaya@gmail.com

*Поступила 30.04.2021*