

БЪЛГАРСКА АКАДЕМИЯ НА НАУКИТЕ
ИНСТИТУТ ПО ОРГАНИЧНА ХИМИЯ С ЦЕНТЪР ПО ФИТОХИМИЯ

Ангел Николов Конакчиев

ЕТЕРИЧНИ МАСЛА ОТ СОРТОВЕ *LAVANDULA ANGUSTIFOLIA* MILL.
И ВИДОВЕ ОТ РОД *ACHILLEA* L.

АВТОРЕФЕРАТ

На дисертационен труд за присъждане на образователната и научна степен “Доктор”

*По специалност: „ Биоорганична химия, химия на природните и физиологично активни
вещества”, шифър 01.05.10*

Научен ръководител: доц. д-р Милка Годорова

София, 2015

БЪЛГАРСКА АКАДЕМИЯ НА НАУКИТЕ
ИНСТИТУТ ПО ОРГАНИЧНА ХИМИЯ С ЦЕНТЪР ПО ФИТОХИМИЯ

Ангел Николов Конакчиев

**ЕТЕРИЧНИ МАСЛА ОТ СОРТОВЕ *LAVANDULA ANGUSTIFOLIA* MILL.
И ВИДОВЕ ОТ РОД *ACHILLEA* L.**

АВТОРЕФЕРАТ

На дисертационен труд за присъждане на образователната и научна степен “Доктор”

*По специалност: „ Биоорганична химия, химия на природните и физиологично активни
вещества”, шифър 01.05.10*

Научен ръководител: доц. д-р Милка Тодорова

Научно жури:

Вътрешни членове:

Чл.- кор. проф. дн. В. Банкова – рецензент

Доц. д-р М. Тодорова - научен ръководител

Външни членове:

Проф. д-р С. Берков - рецензент

Доц. д-р Л. Евстатиева

Доц. д-р Т. Атанасова

София, 2015

Експерименталните и теоретични изследвания по настоящия дисертационен труд са проведени в Института по органична химия с център по фитохимия (ИОХЦФ) – БАН.

Дисертационният труд съдържа 114 печатни страници, 23 фигури, 8 схеми и 13 таблици. Списъкът на литературата включва 116 заглавия, от които 17 на кирилица.

Дисертационният труд е обсъден и насочен за защита на колоквиума на Лаборатория "Химия на природните вещества" на ИОХЦФ – БАН на 26. 06. 2015 г. (Протокол № 23/26.06.2015).

Защитата на дисертационния труд ще се състои на 201... г. от ... часа в зала „Акад. Богдан Куртев“ на ИОХЦФ – БАН, ул. „Акад. Г. Бончев“, бл. 9.

Материалите по защитата се намират на разположение на интересуващите се в канцеларията на ИОХЦФ - БАН, ул. „Акад. Г. Бончев“, бл. 9.

ВЪВЕДЕНИЕ

Лечебните растения са обект на особено внимание през последните години. Те са важна част от растителните ресурси на България. Много от тях са богати на етерични масла, които са обект на изследване от десетилетия. Етеричните масла са много различни по отношение на аромат дължащ се на изключително голямото разнообразие от компоненти, участващи в тях. Научните изследвания през годините са доказали много възможности за тяхното приложение – в медицинската практика като хранителни добавки, репеленти, ароматерапия; в селското стопанство като инсектициди; в парфюмерията и козметиката и т.н. В много случаи те могат да бъдат използвани и като хемотаксономични маркери в помощ на систематика на видове на различно ботаническо ниво.

Лавандулата е етерично-маслена култура с основно промишлено значение в България и маслото, получено от нея, намира широко приложение в парфюмерията, козметиката и не на последно място в ароматерапията. У нас диворастящи представители на род *Lavandula* не се срещат. *L. angustifolia* Mill. се култивира и са създадени над 15 сорта, от които в момента практически се използват 7 от тях. Досега изследванията върху състава на техните етерични масла се ограничават до определяне на основни компоненти. Липсват данни за пълен анализ – количествен, качествен и енантиомерен състав.

За разлика от лавандулата, която у нас е известна само като културно растение, 20 вида от род *Achillea* се срещат в естествени популации. Етеричното масло и екстракти от някои видове се използват за изготвяне на козметични и апетито възбуждащи средства. С лечебни свойства, като противовъзпалителни, спазмолитични и противожлъчни са известни представителите, включени в групата *Millefolium*, от които в България са разпространени 6 вида. Поради това, че морфологично трудно се различават, всички бяло-цъфтящи видове се събират и използват като билка „Herba Millefolii”. Изследванията през последните години върху етеричните масла от видовете на група *Millefolium* показват голяма вариабилност и са правени опити за използване на етерично-маслените компоненти като хемотаксономични маркери. Химичният състав етеричните масла от българските видове от тази група не са изследвани до започване на настоящите изследвания.

ЦЕЛИ И ЗАДАЧИ

Изследванията в настоящата работа са насочени към изучаване на етерични масла от представители на род лавандула и род *Achillea* L. от български произход.

Цели на настоящата дисертация са:

- Изследване на химичния състав на етерично масло от 7 български сорта лавандула и влиянието на степента на цъфтеж върху количеството и качеството на маслото.
- Сравнително изследване на химичния състав на етерични масла от видове *Achillea*;

За постигането на тези цели е необходимо изпълнението на следните задачи:

1. Получаване на етерични масла от 7 сорта лавандула и 4 вида равнец;
2. Определяне химичният състав на получените етерични масла;
3. Провеждане на сравнителен качествен и количествен анализ на етерични масла, получени при 5 степени на цъфтеж на подбраните сортове лавандула;
4. Определяне на енантиомерната чистота на камфор, линалол и линалил ацетат в лавандулови масла;
5. Провеждане на сравнителен качествен и количествен анализ на етерични масла, получени от четири вида *Achillea*;
6. Изследване влиянието на начина на дестилация върху количествения и качествен състав на етеричното масло от *A. collina* сорт *Proa*.
7. Интерпретиране на получените резултати за видовете *Achillea* от хемотаксономична гледна точка.

3. РЕЗУЛТАТИ И ОБСЪЖДАНЕ

3.1. Лавандула

3.1.1. Определяне химичния състав на лавандулови масла от различни сортове

Повишените изисквания през последните години към качеството, безопасността и автентичността на натуралните ароматични продукти могат да бъдат удовлетворени единствено с една достоверна и обективна качествена и количествена характеристика на химичният им състав.

За определяне на химичният състав на маслата са одестилирани по три проби свеж лавандулов цвят от всеки сорт във фаза пълен цъфтеж (75%). Усреднените стойности от газ хроматографският анализ са представени в Таблица 7, където индивидуалните компоненти са подредени в последователността на тяхното време на задържане на полярна колона (полиетилен гликол) и количеството им е дадено в проценти чрез автоматично интегриране на площите на газ хроматографските сигнали по метода на вътрешното нормиране. От регистрираните 63 газ хроматографски пика в количество над 0,05% поне в една от изследваните проби са идентифицирани 49 индивидуални съединения. Тяхното общо количество възлиза над 97,8% (Табл. 7).

Всички изследвани сортове лавандула се характеризират с високо етерично маслено съдържание с изключение на сорт „Карлово” (1,1 %). При „Дружба” и „Хемус” то е съответно 1,9 % и 2,2 % и достига до 2,9 % и 3,1 % съответно за останалите четири сорта. От тук може да се направи заключението, че поради ниското си етерично-маслено съдържание, вече не е целесъобразно да се отлежда сорт „Карлово” за производство на масло, но и до сега той си остава ненадминат при производството на сушен цвят, благодарение на това, че запазва чистия си син цвят след изсушаване. При останалите сортове е нормално по-старите „Дружба” и „Хемус” да са с малко по-ниско съдържание на масло от останалите, които са селектирани след тях и единия от основните показатели при регистрацията им е бил точно по-високо съдържание на етерично масло от досега съществуващите сортове.

Таблица 7. Химичен състав на лавандулови масла от сортове „Рая”, „Юбилейна” (Ю-а), „Севтополис” (С-с), „Хебър” (Х-р), „Хемус” (Х-с), „Дружба” (Д-а) и „Карлово” (К-о).

Компонент	К.І.	Рая	Ю-а	С-с	Х-р	Х-с	Д-а	К-о
Пентанал	962	сл.	сл.	0,1	0,1	сл.	сл.	сл.
α -Пинен	1021	0,1	0,3	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1
α -Туйен*	1030	сл.	0,2	0,1	сл.	сл.	сл.	сл.
Камфен	1076	0,2	0,1	0,2	0,1	0,1	0,1	сл.
β -Пинен	1111	0,1	сл.	сл.	сл.	0,1	сл.	сл.
Сабинен	1121	0,1	сл.	0,1	сл.	сл.	0,1	сл.
Δ^3 -Карен	1142	0,2	0,1	0,2	0,3	0,1	0,2	0,1
Мирцен	1159	0,8	0,5	0,8	0,5	0,5	0,5	0,5
α -Терпинен	1189	-	0,1	-	сл.	-	сл.	сл.
Лимонен	1193	0,6	0,2	0,8	0,4	0,2	0,3	0,4
1,8-Цинеол + β -Феландрен	1211	1,7	0,2	2,2	1,0	1,1	0,8	1,4
Z- β -Оцимен	1229	4,8	7,5	3,1	9,0	3,6	6,4	7,6
γ -Терпинен	1245	сл.	0,2	сл.	сл.	-	0,1	сл.
E- β -Оцимен	1251	2,5	4,5	2,9	4,5	2,2	0,9	0,9
3-Октанон	1268	2,3	1,3	2,5	1,6	2,6	0,1	0,3
p-Цимен	1270	0,3	0,4	0,6	0,6	0,3	0,7	0,6
Терпинолен*	1287	0,1	0,1	0,1	сл.	сл.	0,1	0,1

Хексанол*	1346	0,2	0,1	0,4	0,2	0,3	сл.	0,1
Октенил-3-ацетат	1374	0,9	0,9	1,6	0,9	0,8	1,5	1,5
Октанол + Галбанолен*	1536	0,2	0,1	0,2	0,1	0,2	0,1	0,1
Хексил бутират*	1407	0,2	0,3	0,3	0,2	0,3	0,3	0,3
Z-Линалол оксид*	1432	0,1	0,2	сл.	0,1	0,1	0,1	0,3
Октен-3-ол	1428	0,1	0,1	0,2	0,1	0,1	0,3	0,5
E-β-Сабинен гидрат*	1462	сл.	0,2	сл.	сл.	сл.	сл.	сл.
E-Линалол оксид*	1462	0,1	0,1	сл.	сл.	0,1	0,1	0,2
Камфор	1517	0,1	0,2	0,1	0,1	0,1	0,1	сл.
Линалол	1574	29,0	19,1	22,3	23,1	31,8	30,4	27,5
Линалил ацетат	1554	37,7	42,7	35,6	43,5	39,1	43,8	41,2
α-Сантален	1583	0,4	0,4	0,6	0,3	0,3	0,5	1,3
Борнил ацетат	1586	сл.	сл.	сл.	сл.	сл.	сл.	0,1
α-Бергамотен	1574	0,4	0,2	0,3	0,2	0,3	0,2	0,3
β-Кариофилен	1594	4,0	2,5	5,7	2,5	4,0	4,2	3,0
Терпинен-4-ол	1602	0,2	6,8	0,5	0,7	сл.	1,5	0,3
Лавандулил ацетат	1604	3,7	4,5	4,7	2,5	3,6	0,7	3,5
Криптон*	1642	0,1	сл.	0,1	0,1	0,1	сл.	0,1
E-β-Фарнезен	1668	2,3	1,2	5,2	2,5	2,6	0,5	1,2
Лавандулол	1682	0,8	0,6	1,3	0,5	0,8	0,4	0,8
α-Терпинеол	1690	0,8	0,7	0,9	0,7	0,8	0,9	0,7
Борнеол+ Гермакрен Д*	1696	1,6	0,8	2,0	0,8	1,1	0,7	1,3

Нерил ацетат	1721	0,4	0,2	0,1	0,2	0,2	0,3	0,3
Геранил ацетат	1750	0,5	0,3	0,5	0,3	0,3	0,4	0,5
Кумин алдехид*	1759	0,1	сл.	0,2	0,1	0,1	0,1	0,1
Нерол	1780	0,2	0,1	0,2	0,1	0,1	0,1	0,3
Гераниол	1844	0,4	0,2	0,4	0,3	0,2	0,4	0,4
Кариофилен оксид*	1977	0,1	0,2	0,3	0,2	0,2	0,2	0,3
Т-Кадинол	2164	0,1	сл.	0,2	0,1	сл.	0,1	0,3
Монотерпени		9,8	14,2	9,0	15,5	7,2	9,5	10,3
Монотерпеноиди		77,4	76,9	71,0	74,0	79,5	80,8	78,9
Сескитерпени		7,1	4,3	11,8	5,5	7,2	5,4	5,8
Сескитерпеноиди		0,2	0,2	0,5	0,3	0,2	0,3	0,6
Други		4,0	2,8	5,4	3,3	4,4	2,3	2,9
Общо		98,5	98,4	97,7	98,6	98,5	98,3	98,5
Съдържание на масло, % (мл/гр)		2,9	3,1	3,0	3,0	2,2	1,9	1,1

сл. - следи (< 0.05 %); * - За първи път в българско лавандулово масло.

От Таблица 7 се вижда, че няма разлика в качествения състав на етеричните масла получени от изследваните сортове, а само известни количествени разлики на някои от характерните за лавандулово масло компоненти.

В съгласие с типичния химичен състав на лавандулово масло, основните компоненти в изследваните проби са естери и алкохоли, количеството на които варира в сравнително широки граници – 66,5% - 92,0%. От идентифицираните 22 терпенови въглеводорода с обща сума 12,9% - 20,1%, в по-значителни количества са само *Z*- и *E*- β -оцимен, β -кариофилен и *E*- β -фарнезен. Както е отбелязано в Таблица 7, 12 от

компонентите се откриват сега за пръв път в проби от българско лавандулово масло, а именно: α -туйен, терпинолен, хексанол, галбанолен (1,3,5-ундекатриен), хексилбутират, *Z*- и *E*-линалол оксид, *E*- β -сабинен хидрат, криптон, гермакрен Д, куминалдехид и кариофилен оксид. От особено значение за аромата на маслото са някои от тези микрокомпоненти, напр. оксидите на линалол и β -кариофилен. Интересно е да се отбележи, че някои компоненти, намирани преди в български лавандулови масла не са открити в изследваните проби дори и в следи. Това са кислородсъдържащите съединения хексенил ацетат (Бояджиева, 1975), цитронелол (Бояджиева, 1975; Димитров, 1985), терпинил ацетат (Nikolov et al., 1977), кумарин (Димитров, 1985), и сескитерпеновите въглеводороди *ar*-куркумен, β -сантален и γ -кадинен (Vlahov et al., 1967).

Линалол и линалил ацетат са двата основни компонента в лавандуловото масло. Сумарно те съставляват между 60 % и 75 % от маслото. Маслата от сортове „Рая”, „Хемус” и „Дружба” са с най-високо съдържание на линалол (29,0 – 31,8 %), като концентрацията му при останалите сортове не надвишава 23,1 % (Табл. 7). При линалил ацетата не се наблюдават значителни разлики в концентрацията му.

Терпинен-4-ол е нежелан компонент в лавандуловото масло поради неговия тръпчив, билков и с нотка на плесен мирис. Количеството му в изследваните проби варира от следи в маслото от „Хемус” до 1,5 % в маслото от „Дружба”. Изключение прави маслото от сорт „Юбилейна”, което се характеризира с високо съдържание на терпинен-4-ол достигащо 6,8%, което е с почти 30% по-високо от максимално допустимото количество според БДС ISO 3515:2004 (до 5%).

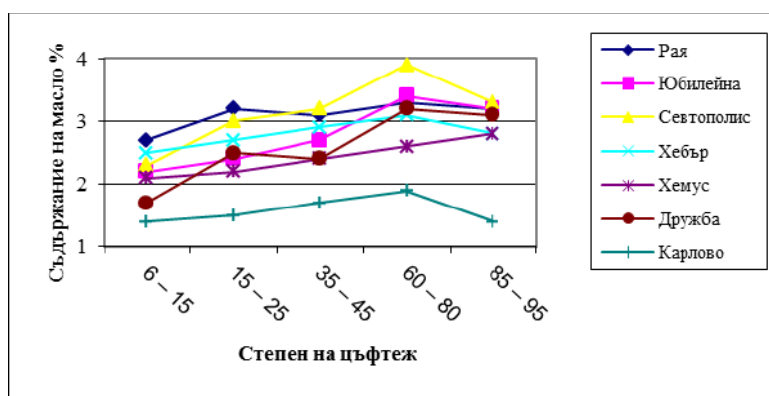
Количеството на *E*- β -фарнезен е най-малко (0,5%) в маслото от сорт „Дружба” и достига до 5,2% в маслото от сорт „Севтополис”, като неговата концентрация в маслата от сортове „Хемус”, „Рая”, „Юбилейна”, „Карлово” и „Хебър” се движи в интервала от 1,2% до 2,6%.

Количеството на *E*- β -оцимен е най-ниско в маслата от сортове „Дружба” и „Карлово” (0,9%), повишава се до 2,2% – 2,9% в маслата от сортове „Рая”, „Севтополис” и „Хемус” и достига до 4,5% в маслата от сортове „Юбилейна” и „Хебър”. Съдържанието на лавандулил ацетат е 0,7% в масло от сорт „Дружба”, 2,5% от сорт „Хебър” и достига до 3,5% – 4,7% в маслата от останалите сортове. 3-Октанон,

притежаващ характерен лавандулов аромат, е с най-ниска концентрация в маслото от „Дружба” (0,1%) и „Карлово” (0,3%) и варираща между 1,3% и 2,6% в маслата от останалите сортове.

3.1.2. Влияние на степента на цъфтеж на лавандуловите съцветия върху количеството и химичния състав на етеричното масло

3.1.2.1. Влияние на степента на цъфтеж на лавандуловите съцветия върху етерично масленото съдържание

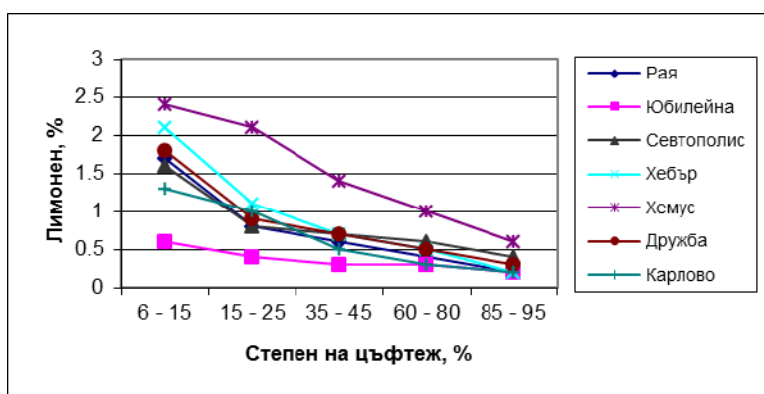


Фиг. 6. Промяна в етеричномасленото съдържание в зависимост от степента на цъфтеж.

Данните за изследваните сортове показват, че с изключение на сорт „Хемус“ максимум на натрупване на етеричното масло в свежа маса настъпва при 60 – 80 % фаза на цъфтеж (фиг. 6). За сортове „Рая” и „Хебър” се наблюдава високо етерично маслено съдържание в много широк интервал в зависимост от степента на цъфтеж (от 15% до 95%), което е съответно 3,1% – 3,3 % („Рая”) и 2,7% – 3,1% („Хебър”). При останалите сортове се наблюдава подчертан максимум в интервала 60 – 80 % степен на цъфтеж с изключение на сорт „Хемус”, който с плавно нарастване на етеричномасленото си съдържание максимум в края на цъфтежа (85% – 95 %).

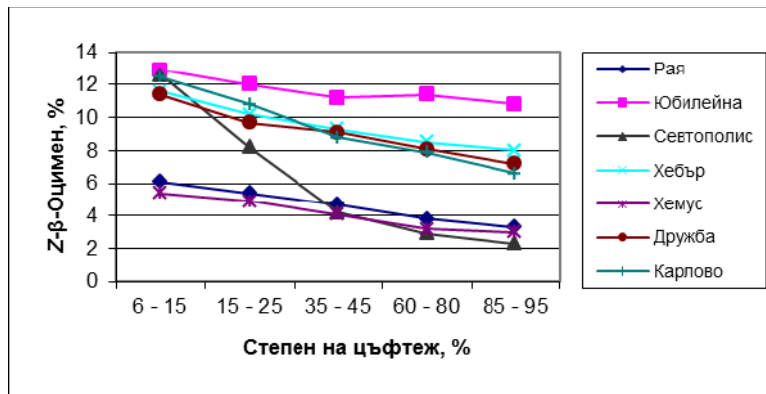
3.1.2.2. Влияние на степента на цъфтеж на лавандуловите съцветия върху количествения състав на характерни компоненти на етеричното масло

Като цяло за всички сортове в началото на цъфтежа е характерно високо съдържание (фиг. 7) на монотерпеновия въглеводород лимонен (1,3% – 2,4%), с изключение на маслото от сорт „Юбилейна“ (0,6%). С напредване на цъфтежа съдържанието му първоначално рязко намалява до 0,8 % – 1,1% при 15% - 25% степен на цъфтеж, след което плавно се понижава до 0,2% – 0,4% в края на цъфтежа с изключение на маслото от сорт „Хемус“, където съдържанието на лимонен първоначално плавно намалява до 2,1% (при 15% - 25%), а след това по-рязко спада и достига до 0,6 % при 85% - 95% цъфтеж.



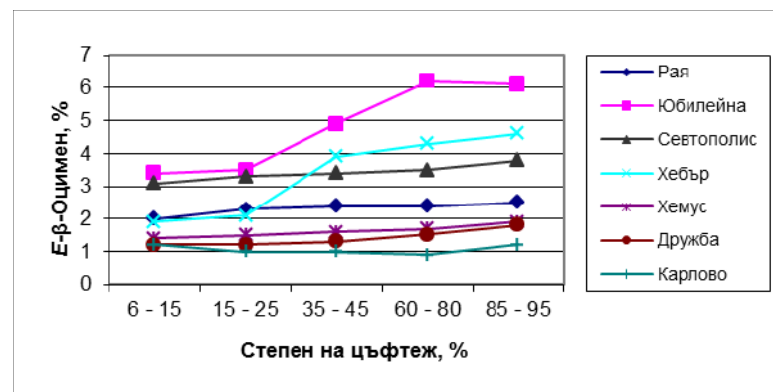
Фиг. 7. Промяна в съдържанието на лимонен в зависимост от степента на цъфтеж.

Съдържанието на Z- β -оцимен (фиг. 8) плавно намалява с напредване на цъфтежа с изключение на маслото от сорт „Севтополис“, при което съдържанието му рязко намалява от 12,6% до 4,2% при 35 - 45% степен на цъфтеж, след това плавно се движи надолу до 2,3%. Най-плавно намаление на съдържанието на Z- β -оцимен се наблюдава при маслото от сорт „Юбилейна“ от 12,5 % до 10,8 % и остава най-високо спрямо съдържанието му в другите сортове.



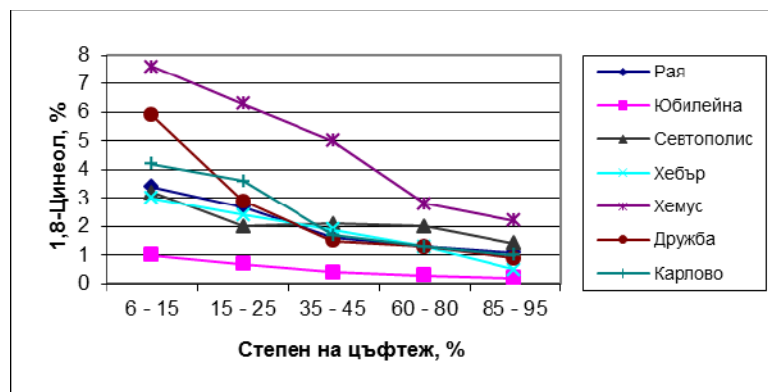
Фиг. 8. Промяна в съдържанието на Z - β -оцимен в зависимост от степента на цъфтеж.

С напредване на цъфтежа съдържанието на E - β -оцимен (фиг. 9) почти се запазва в маслото от сорт „Карлово“, макар и слабо се повишава от 1,2% - 3,1% до 1,8% - 3,8% за останалите лавандулови масла с изключение на маслата от сортове „Хебър“ и „Юбилейна“, при които съдържанието му от 2,1% - 3,5% след 15% - 25% степен на цъфтеж рязко се повишава до 4,6% - 6,1%.



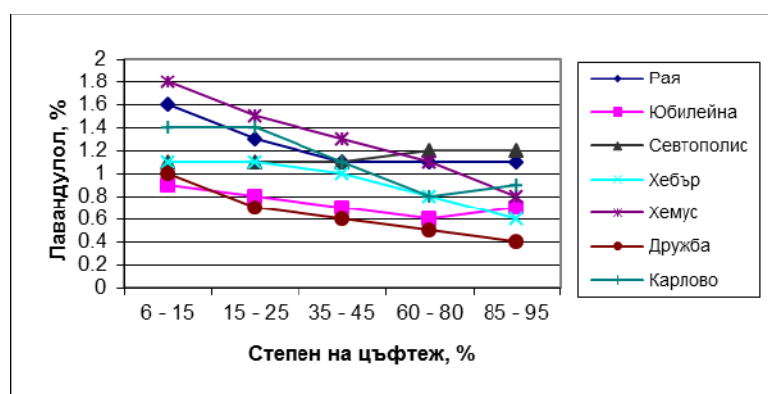
Фиг. 9. Промяна в съдържанието на E - β -оцимен в зависимост от степента на цъфтеж.

От кислород съдържащите съединения при 1,8-цинеол (фиг. 10) също така се наблюдава ясно изразена тенденция към намаляване на съдържанието му във всички лавандулови масла с напредване на цъфтежа.



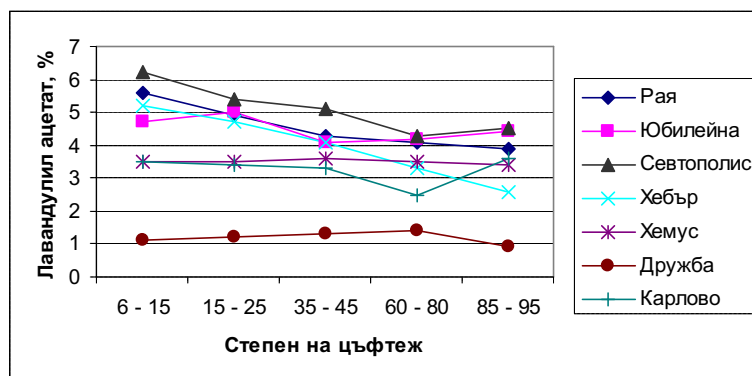
Фиг. 10. Промяна в съдържанието на 1,8-цинеол в зависимост от степента на цъфтеж.

За лавандулола (фиг. 11) е характерна тенденция за намаляване на съдържанието му в лавандулови масла от всички сортове до 60 – 80 % степен на цъфтеж, след което за сорт „Рая” се запазва, а за сортове „Юбилейна” и „Карлово” леко се повишава.



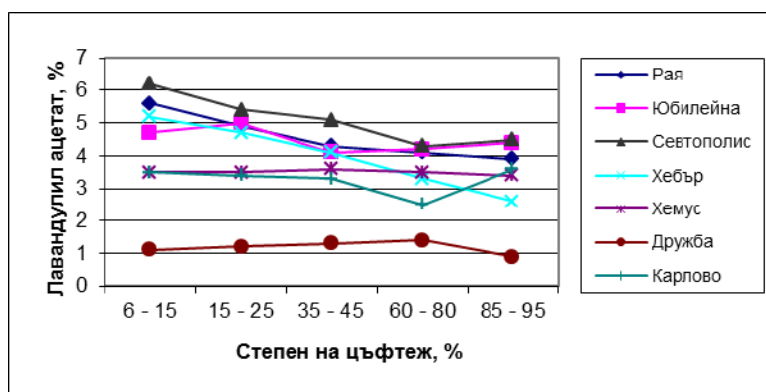
Фиг. 11. Промяна в съдържанието на лавандулол в зависимост от степента на цъфтеж.

Количеството на лавандулил ацетатът (фиг. 12) в зависимост от степента на цъфтеж варира различно при отделните сортове. Така при „Хемус” съдържанието му се запазва почти постоянно през целия период на цъфтеж, в „Рая” и „Хебър” плавно се понижава. В „Дружба” леко нараства, а в „Карлово” намалява с напредване на цъфтежа до 60 - 80%, след което съответно се понижава в „Дружба” и повишава в „Карлово” в края на цъфтежа.



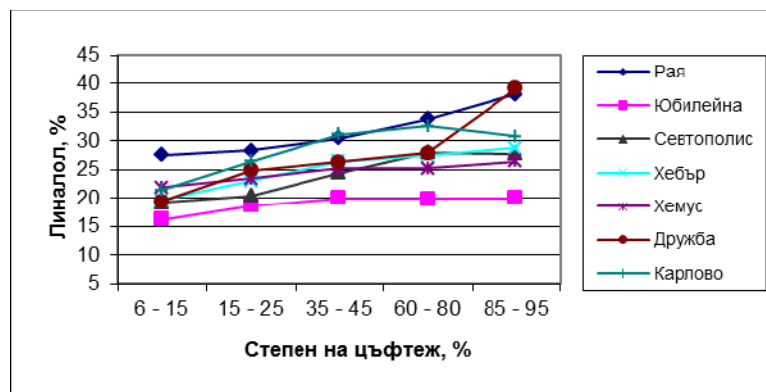
Фиг. 12. Промяна в съдържанието на лавандулил ацетат в зависимост от степента на цъфтеж.

За терпинен-4-ол (фиг. 13) се наблюдава повишение на съдържанието му при маслата от сортове „Дружба”, „Карлово” и „Юбилейна”, при останалите масла съдържанието му почти не се променя с напредване на степента на цъфтеж.



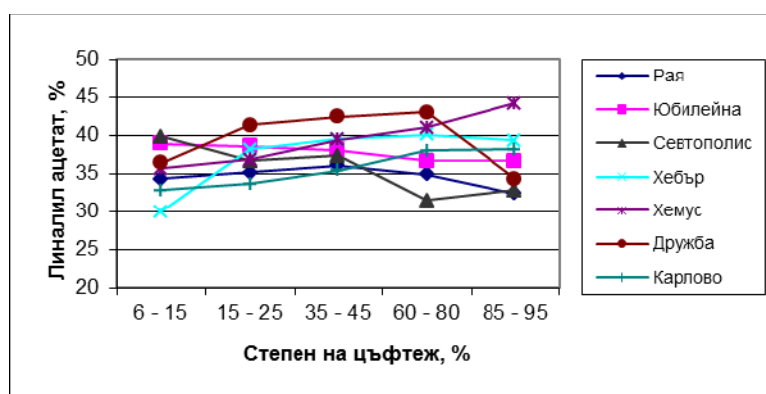
Фиг. 13. Промяна в съдържанието на терпинен-4-ол в зависимост от степента на цъфтеж.

Съдържанието на линалол (фиг. 14) в масла от сортове „Хемус“, „Карлово“, „Юбилейна“, „Севтополис“ и „Хебър“ нараства до 35 – 45% степен цъфтеж, след което се запазва приблизително еднакво. При „Дружба“ и „Рая“ съдържанието му расте през целия период на цъфтеж, като след 80 % цъфтеж рязко нараства.



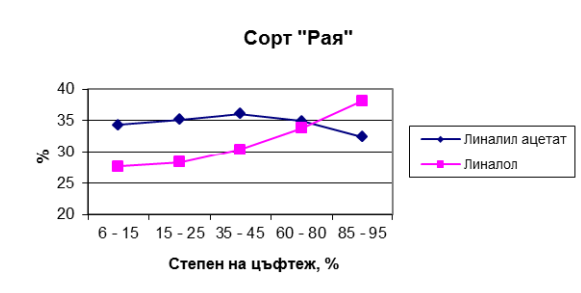
Фиг. 14. Промяна в съдържанието на линалол в зависимост от степента на цъфтеж.

Линалил ацетатът (фиг. 15) е компонентът, който варира в най-голяма степен. При маслата от сортовете „Хемус“, „Карлово“ и „Хебър“ съдържанието му нараства до 25% цъфтеж след което се запазва почти постоянно с максимум при 60 - 80% цъфтеж. Обратната тенденция се наблюдава при маслата от Юбилейна и Севтополис – максимум в началото и постепенно намаляване към края на цъфтеж.

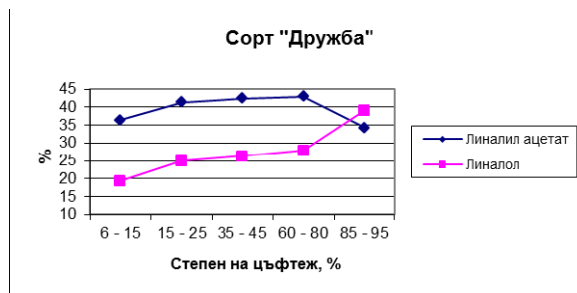


Фиг. 15. Промяна в съдържанието на линалил ацетат в зависимост от степента на цъфтеж.

При масла от „Рая” (фиг. 16) и „Дружба” (фиг. 17) линалил ацетатът нараства до 75% цъфтеж, след което рязко намалява. Това намаление в комбинация с увеличението на линалола води до нетипичното за лавандулово масло съотношение на линалол / линалил ацетат в края на цъфтежа.

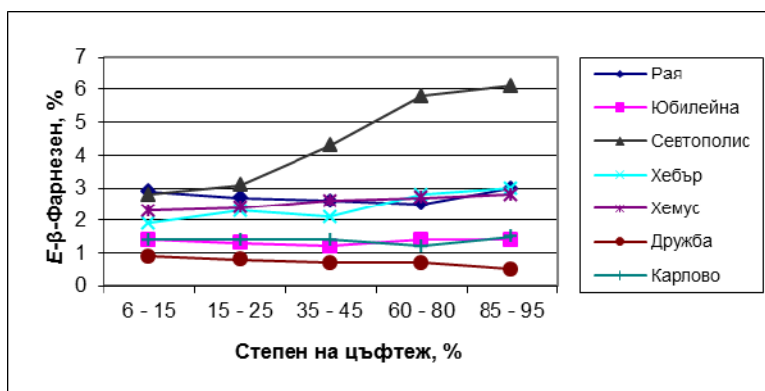


Фиг. 16. Съдържанието на линалол и линалил ацетат в зависимост от степента на цъфтеж.



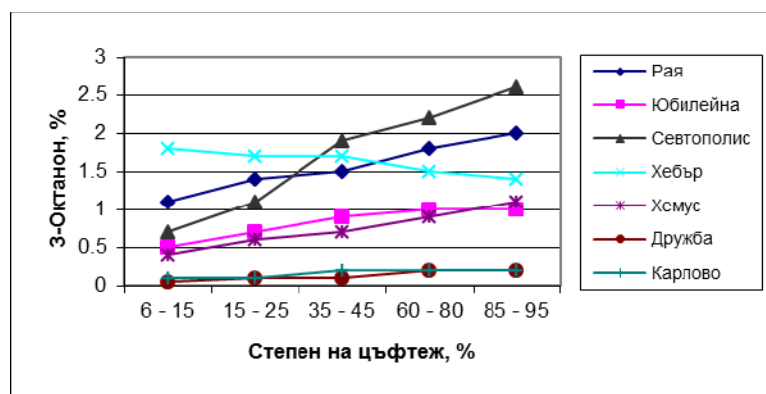
Фиг. 17. Съдържанието на линалол и линалил ацетат в зависимост от степента на цъфтеж.

Тази тенденция много отчетливо е регистрирана през 2005 и 2006 година. Жътвата на лавандулата в цялата страна закъсня поради неблагоприятни климатични условия и във всички търговски партии лавандулово масло концентрацията на линалола бе съизмерима или по-висока от тази на линалил ацетата.



Фиг. 18. Промяна в съдържанието на *E*-β-фарнезен в зависимост от степента на цъфтеж.

E- β -Фарнезенът (фиг. 18) е един от характерните компоненти за българското лавандулово масло, независимо че не фигурира в БДС ISO 3515:2004. Неговата концентрация не се влияе много в периода на цъфтеж: слабо намалява в масло от „Дружба”, слабо се увеличава в масло от „Хемус”, расте в масла от „Севтополис” и „Хебър” и се запазва почти постоянна в маслата от останалите сортове. Промяната в съдържанието на 3-октанон (фиг. 19) в маслата от различните сортове е различно. С напредване на цъфтежа се наблюдава слабо повишение на съдържанието му в масло от „Хемус” и „Юбилейна“, постоянно количество в масло от „Дружба” и „Карлово”, слабо намаление в масло от „Хебър” и рязко повишение в маслата от „Рая” и „Севтополис”.



Фиг. 19. Промяна в съдържанието на 3-октанон в зависимост от степента на цъфтеж.

Количеството на други два характерни компонента, камфор и α -терпинеол, определящи автентичността и ароматичните качества на лавандуловото масло се запазва постоянно за целия период на цъфтеж на растенията.

3.1.3. Енантиомерен състав на лавандулови масла

Липсват експериментални данни за енантиомерния състав на българско лавандулово масло. Енантиомерният състав на линалол и линалил ацетат вече е фармакопейно изискване (07/2010:1338) за лавандулово масло (*Lavandula angustifolia* Mill.). Разработен е общ ISO стандарт (ISO 22972:2004) за определяне на

енантиомерния състав на компоненти в етерични масла с капилярни хирални колони, който е приет и в България (БДС ISO 22972:2006), след което следва разработването на стандарти и за конкретни етерични масла.

В това изследване са включени трите най-широко разпространени сорта в страната, формиращи характера на българското лавандулово масло. За сравнение е използвана една търговска мостра българско лавандулово масло с максимални гаранции по отношение на неговата автентичност.

От получените резултати (Табл. 8) се вижда, че няма значима разлика в енантиомерния състав на трите компонента между търговската и лабораторно дестилираните проби. Това означава, че стандартната технология за производство на лавандулово масло не оказва съществено влияние върху съотношението на енантиомерите, основно на линалола. (*R*)-(-)-Линалил ацетат е основния енантиомер в лавандуловото масло, като съдържанието му е не по-малко от 99 %. Възможната хидролиза на естера до линалол в резултат на прекалено дълга парна дестилация (>1.5 часа), водна дестилация или на други странични фактори не променя неговата енантиомерна чистота. Наличието на (*S*)-(+)-енантиомера над 1 % е сигурен признак за наличие в лавандуловото масло на синтетичен линалил ацетат, който е рацемат. Полученият линалол в резултат на хидролиза е рацемат поради преминаването през карбокатион. Съдържанието на (*S*)-(+)-енантиомера на линалол при нормална парна дестилация достига до 5 %, при водна или по-продължителна парна дестилация до 8 % при допустими според Европейската фармакопея до 12 %. Концентрация над 12 % със сигурност се дължи на наличие в лавандуловото масло на синтетичен линалол. Камфорът е един от характерните компоненти, отличаващи лавандуловото от лавандиново и спиково масло, като в последните той е с висока концентрация. Литературните данни за енантиомерното съдържание на камфор в лавандулово масло са ограничени. Съобщава се както за проби с висока енантиомерна чистота на (*R*)-(+)-камфор така и с високо съдържание на (*S*)-(-)-камфор. В изследваните проби преобладава (*S*)-(-)-енантиомера с изключение на „Дружба”, където двата са в съотношение приблизително 1:1.

Детайлните стереохимични изследвания на етеричните масла могат да дадат отговор на много въпроси свързани с хемотаксономията на растителния материал и по-голяма обективност при извършването на качествения контрол.

Таблица 8. Енантиомерен състав (%) на линалол, линалил ацетат и камфор

Проба	Линалол		Линалил ацетат		Камфор	
	(<i>S</i>)-(+)	(<i>R</i>)-(-)	(<i>S</i>)-(+)	(<i>R</i>)-(-)	(<i>R</i>)-(+)	(<i>S</i>)-(-)
Търговска	4,9	95,1	0	100	34,1	65,9
„Дружба”	3,4	96,6	0	100	52,2	47,8
„Хемус”	5,0	95,0	0	100	36,8	63,2
„Рая”	3,8	96,2	0	100	27,4	78,6

3.2. *Achillea*

3.2.1. Определяне на химичния състав на видове от род *Achillea*

3.2.1.1. *A. crithmifolia*

Етеричните масла получени чрез водна дестилация на въздушно сухи цветове от *A. crithmifolia* от седем различни популации (CRT 1 – CRT 7), са анализирани с ГХ и ГХ-МС и 40 компонента, съставляващи 75,9% до 96% от маслото са идентифицирани. Качественият и количествен състав, както и етеричномасленото съдържание на изследваните проби са представени в Таблица 9 по реда на тяхното елуиране върху колона HP-5MS.

Етеричномасленият състав на изследваните проби се характеризира с ниско съдържание на сескитерпеноиди (2,3 – 9,7%), пълна липса на хамазулен и значително вариране в количественото съдържание на кислородсъдържащите монотерпеноиди (64,2 - 81,2%), които имат отношение към аромата на маслата. Например, артемизиа алкохол (0 - 46,2%), йомоги алкохол (0 - 10,4%), 1,8-цинеол (1,9 – 46,9%), линалол (1,0 - 17,5%), хризантенон (0 – 10,3%), камфор (0,5 - 36,3%), *транс*-хризантемил ацетат (0 - 21,9%) варират в широки граници в различните проби.

Съгласно приложения клъстерен анализ, представен чрез дендрограма (Фиг. 20) етеричните масла се разделят на две основни групи.

За първата група, включваща проби CRT1 и CRT2 е характерно високо съдържание на артемизиа алкохол (23,5% и 46,2%). Друг неправилен монотерпеноид, йомоги алкохол също е намерен в не малко количество (съответно 3,2% и 10,4%). Трябва да се отбележи, че тези два компонента отсъстват в останалите пет проби. Те не са типични компоненти за етерични масла от равнец и досега са намирани само в *A. millefolium* subsp. *millefolium* (17,7% и 37,2%) (Karamenderes et al., 2002), *A. ageratum* (16,5- 22,3% и 2,7-7,6%) (Muselli et al., 2007, Puerta et al., 1996, Maffei et al., 1993), *A. filipendulina* (Sharapov & Setzer, 2010, Sadirberov, 2006) *A. serbica* и *A. fragrantissima* (3,3-4,4% и 0,3-0,8%) (Aboutabl et al., 1986, El-Shazly et, 2004). Присъствието на β -туйон (1,8% и 1,1 %) и 1-епи-кубенол също отличават тези две проби от останалите пет, в които тези съединения не са регистрирани даже в следи. *E*-хризантенил ацетат е също характерен компонент на двете масла и достига 21,9% в CRT1, но освен в тях е открит и в CRT6 (3,1%). Проби CRT1 и CRT2, макар че произхождат от различни райони (Софийски район и Тракийска низина) имат много общи химически характеристики, които ги причисляват към един хемотип, съдържащ неправилни монотерпеноиди.

Втората група, включваща CRT3-CRT7 имат много общи компоненти, чиито количества обаче са много различни. Тези проби могат да бъдат разделени допълнително на 3 подгрупи в зависимост от концентрацията на камфор. Една от подгрупите има един представител, проба CRT6, която е най-бедна на камфор (5,6%) и се отличава с максимално съдържание на линалол (17,5%), хризантенон (10,3%) и *транс*-сабинен хидрат ацетат (5,5%). Втората подгрупа включва проби CRT3 и CRT4 (Тракийска низина) с максимално количество на камфор съответно 36,3% и 33,6%. Друг компонент с високо съдържание в тези проби е линалол (11,3% и 7,6%), следван от борнеол (10,1%) в CRT3 и терпинен-4-ол (10,1%) в CRT4. Съдържанието на 1,8-цинеол и *цис*-сабинен хидрат също е различно в тези две масла. Докато 1,8-цинеол е в по-висок процент в CRT3, *цис*-сабинен хидрат е в по-висока концентрация в CRT4. Отсъствието на хризантенон отличава тези две проби от останалите. Въпреки дискутираните разлики между CRT3 и CRT4, етеричномасления профил на тези проби демонстрира тяхната близост.

Останалите две проби, CRT5 и CRT7 формират третата подгрупа с умерено съдържание на камфор (15,9 и 13,4%). Други характерни компоненти са 1,8-цинеол и α -терпинеол. Сантолина триен и α -туйен присъстват само в тях. В CRT5 количеството на 1,8-цинеол и камфор е от един порядък (15,4 и 15,9%), докато в CRT7 1,8-цинеолът е базов компонент, достигащ 46,9%.

В изследваните от нас проби съдържанието на монотерпенови въглеводороди е сравнително ниско и достига до 14,1 %, за разлика от други етерични масла от *A. crithmifolia* (Maffei et al., 1994), за които е намерено двойно по-високо количество, достигащо до 31,9 %. От друга страна монотерпеновият алкохол ахиленол, който е основен компонент на един хемотип от унгарски произход (Héthelyi et al., 1989) не е намерен в изследваните от нас проби.

Намерените досега данни за състав на етерични масла от *A. crithmifolia* показват, че видът с произход Сърбия (Palic et al., 2003) е с относително високо съдържание на *транс*-хризантенил ацетат (16,6%), ниско съдържание на сантолина триен (0,8%) и основни компоненти са камфор (27,6%) и 1,8-цинеол (26,5%). В етерични масла от полска *A. crithmifolia* (Kowalczyk et al., 2003) също е установено значително количество *транс*-хризантенил ацетат (14,9% и 10,2%) и основните компоненти са камфор, 1,8-цинеол и допълнително β -туйон и борнеол. За разлика от гореспоменатите европейски произходи в етерично масло от *A. crithmifolia*, от Турция (Karamenderes et al., C. 2002) е

намерено високо съдържание на хризантенон (13,5%), като основните компоненти са аскаридол (27,2%) и камфор (18,8%). Характерно за този вид е отсъствие на хамазулен.

Въз основа на получените резултати може да се обобщи, че етеричните масла от *A. crithmifolia* са от монотерпенов тип. Като основни типове преобладават монотерпеноиди с камфанов и р-ментанов въглероден скелет следвани от пинанови и туйанови монотерпеноиди. За две от пробите са характерни „неправилните“ монотерпеноиди.

Според Radulovich, (2007) най-често срещаният на Балканския полуостров тип етерични масла от равнец е 1,8-цинеол-камфор-борнеолов. Резултатите от нашите изследвания не определят еднозначно нито една от пробите към този тип. В CRT5 и CRT7 1,8-цинеол-камфор са основни компоненти, но трети е терпинен-4-ол. Качествените и количествени разлики в етерично-масления състав демонстрират значителна вътревидова изменчивост.

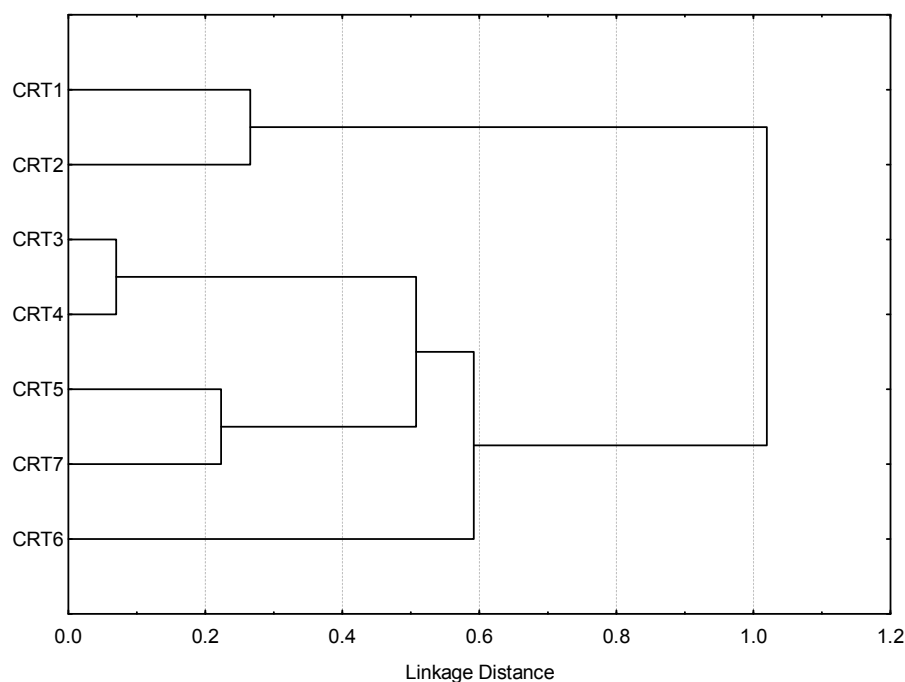
Таблица 9 Химичен състав на етерични масла от *A. crithmifolia* (%)

Компонент ^a	К.И.	CRT 1	CRT 2	CRT 3	CRT 4	CRT 5	CRT 6	CRT 7
Сантолина триен	908	3,1	4,9	0,1	-	0,7	-	0,3
α-Туйен	931	-	-	0,3	0,1	0,1	-	0,1
α-Пинен	939	0,4	0,3	2,3	1,4	1,0	0,6	1,6
Камфен	953	0,1	0,1	4,9	2,9	1,5	0,3	0,7
Сабинен	976	0,4	1,2	0,3	0,3	1,1	0,6	5,9
β-Пинен	980	0,1	0,2	1,0	0,7	0,7	0,2	1,6
Йомоги алкохол	998	3,9	10,4	-	-	-	-	-
α-Терпинен	1018	4,9	1,6	0,3	1,2	2,0	3,0	1,2
ρ-Цимен	1026	1,3	0,5	2,1	3,2	3,3	0,9	0,6
Лимонен	1031	0,1	0,1	0,3	0,2	0,5	сл,	сл.
1,8-Цинеол	1033	2,9	10,7	7,5	1,9	15,4	12,4	46,9
γ-Терпинен	1062	0,6	0,4	0,4	1,4	1,3	0,2	0,6
цис-Сабинен хидрат	1068	0,2	0,3	0,8	6,7	1,7	0,9	0,8
цис-Линалол оксид	1074	-	-	0,6	0,2	сл,	0,2	-
Артемизия алкохол	1083	23,5	46,2	-	-	-	-	-
транс-Линалол оксид	1088	-	сл.	0,5	0,3	0,1	0,2	0,1

Линалол	1098	1,0	1,6	11,3	7,6	1,0	17,5	2,1
α -Туйон	1102	0,3	сл.	0,7	сл.	сл.	0,9	сл.
β -Туйон	1114	1,8	1,1	-	-	-	-	-
<i>цис</i> - ρ -мент-2-ен-1-ол	1121	0,5	0,4	0,4	0,8	0,3	0,6	0,3
Хризантенон	1123	3,9	0,3	-	-	сл.	10,3	сл.
α -Камфоленал	1125	-	0,1	0,4	0,1	0,1	сл.	0,5
Камфор	1143	0,7	0,5	36,3	33,6	15,9	5,6	13,4
Борнеол	1165	1,3	1,4	10,1	3,7	6,1	1,7	2,8
Терпинен-4-ол	1177	0,2	0,5	3,2	10,1	4,0	1,8	2,2
α -Терпинеол	1189	0,3	1,5	1,3	0,8	10,1	2,6	7,5
<i>транс</i> -Хризантенил ацетат	1235	21,9	2,8	-	-	-	3,1	-
<i>транс</i> -Сабинен гидрат ацетат	1253	3,1	1,0	1,4	3,1	1,3	5,5	0,8
Борнил ацетат	1285	1,2	0,3	1,0	1,0	3,6	0,5	0,4
Евгенол	1356	0,2	0,3	0,4	0,3	0,5	0,4	0,4
Жасмон *		0,1	1,7	0,7	1,3	4,0	1,0	0,8
β -Кариофилен	1418	0,3	0,2	0,1	1,1	1,2	0,5	1,1
Гермакрен Д	1480	0,6	1,0	0,3	2,5	2,2	1,9	1,2
β -Селинен	1485	-	-	0,2	0,1	0,3	0,1	-
α -Турмерол	1578	0,4	0,5	0,3	0,5	1,0	0,2	0,3
Кариофилен оксид	1581	1,0	0,3	1,0	2,0	5,0	1,1	1,7
1-эпи-Кубенол	1627	2,0	1,9	-	-	-	-	-
Ейдесмол *		0,2	0,2	0,4	0,4	0,7	0,2	0,1
Валеранон	1672	сл.	сл.	сл.	сл.	сл.	0,8	сл.
Гексадеканова киселина *		0,3	0,1	0,2	1,4	0,1	0,1	0,2
Моноотерпени		11,0	9,3	12,0	11,4	12,2	5,8	12,6
Моноотерпеноиди		66,7	79,1	75,5	69,9	59,6	63,8	77,8
Сескитерпени		0,9	1,2	0,6	3,7	3,7	2,5	2,3
Сескитерпеноиди		3,6	2,9	1,7	2,9	6,7	2,3	2,1
Други		0,6	2,1	1,3	3,0	4,6	1,5	1,4

Общо:		82,8	94,6	91,1	90,9	86,8	75,9	96,2
Съдържание	на	0,31	0,40	0,39	0,16	0,18	0,29	0,25
масло, % (мл/гр)								

^a Ред на елуиране на колона HP-5MS; сл.=следи (<0,1%); * С неопределена стереохимия.



Фиг. 20. Дендрограма на етерични масла от *A. crithmifolia*

3.2.1.2. *A. asplenifolia*

Резултатите от ГХ и ГХ-МС анализи на качествения и количествен състав на седем етерични масла от *A. asplenifolia* от три различни популации са представени в Таблица 10. Идентифицирани са 26 компонента, съставляващи над 72,8 % от маслото. Количеството на монотерпените варира от 9,8 до 51%, а това на сескитерпените - от 12,7 до 74,6%. Съдържанието на кислородсъдържащи моно- и сескитерпеноиди е значително по-ниско. Трябва да се отбележи, че с изключение на една (ASP6) всички проби етерични масла са богати на хамазулен. Други характерни компоненти в изследваните проби са монотерпените сабинен и β -пинен като преобладава единия или другия. В зависимост от тяхното количество, етеричните масла от *A. asplenifolia* могат да бъдат групирани в две основни групи, както е показано на дендрограмата на Фигура 21.

В първата група са включени проби ASP1, ASP3, ASP4, ASP5 и ASP7 богати на хамазулен. ASP1 и ASP4 съдържат най-много хамазулен - над 59,0%, каквото количество се установява за първи път в изследвания вид, а сабинен и β -пинен са в умерени концентрации (2,2; 6,1% в ASP1 и 4,2; 4,0% в ASP4). Тези проби формират подгрупа, към която се причислява и ASP3. В последната е регистрирано също високо съдържание на хамазулен (44,3%), но също така и значително количество β -пинен (16,7%). Втората подгрупа (ASP5 и ASP7) се характеризира с умерено съдържание на хамазулен (25,6% и за двете проби) и максимално количество на β -пинен (21,4 и 43,6%). Тези две проби се отличават от останалите и по най-високо съдържание на α -пинен и 1,8- цинеол.

Към втората група принадлежат пробите ASP2 и ASP6, в които сабинен е основен компонент, регистриран в количества 39,2 и 28,7%, съответно. Струва си да се отбележи, че според някои литературни източници, това характерно за вида съединение, не се открива дори и в следи в таксони *A. asplenifolia* (Héthelyi et al., 1989).

Други вещества присъстващи във всички анализирани масла в концентрация над 1% са сескитерпеноидите β -кариофилен, гермакрен Д, α -зингиберен и кариофилен оксид. Същите съединения са основни компоненти в етерично масло от диворастяща *A. asplenifolia* от бивша Югославия (Simic et al., 2002). За диворастяща *A. asplenifolia* от северна Италия (Maffei et al., 1993) е съобщено високо съдържание на хамазулен (27,9%), зингиберен (5,2%) и гермакрен Д (4,8%), а сабинен и β -пинен - в следи. Rauchsteiner et al., (2002) намират, че за *A. asplenifolia* е характерно доминиране на β -пинен и високо съдържание на сабинен и β -кариофилен.

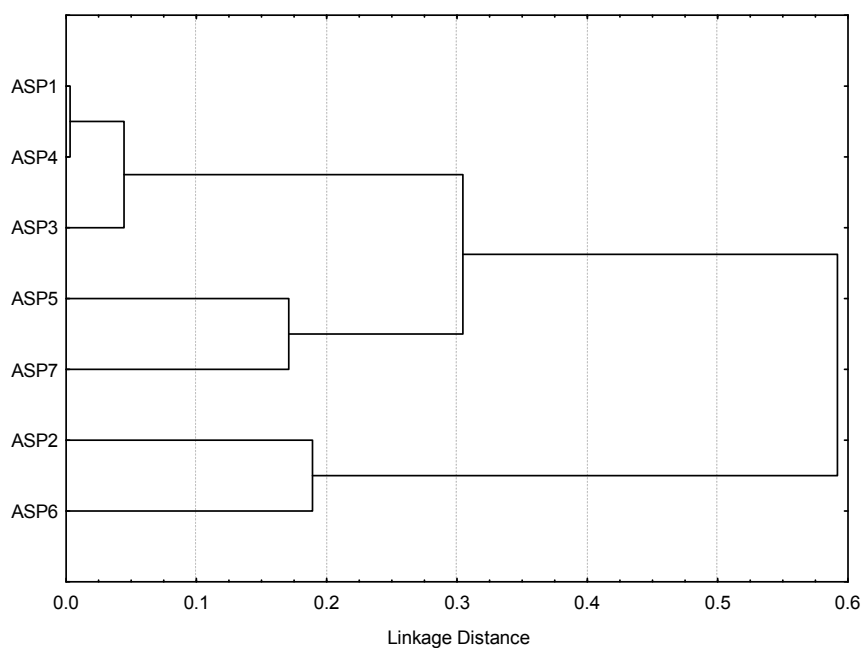
Най-общо от нашите резултати и публикуваните в литературата данни може да се каже, че въпреки наблюдаваната изменчивост, видът се характеризира с високо съдържание на хамазулен, сабинен и β -пинен, като не се наблюдава пряка зависимост в количеството на хамазулен и другите компоненти.

Таблица 10. Химичен състав на етерични масла от *A. asplenifolia* (%)

Компонент ^a	К.И.	ASP1	ASP2	ASP3	ASP4	ASP5	ASP6	ASP7
α -Туйен	931	сл.	сл.	сл.	сл.	0,3	0,2	сл.
α -Пинен	939	0,4	1,0	1,2	0,2	2,2	0,9	4,2
Камфен	953	-	-	-	-	-	-	0,1
Сабинен	976	2,2	39,2	2,1	4,2	15,9	28,7	сл.
β -Пинен	980	6,1	4,0	16,7	4,0	21,4	7,6	43,6
Мирцен	991	0,2	0,5	0,2	1,0	0,6	0,3	0,3
α -Феландрен	1005	-	-	-	-	0,5	0,2	1,1
α -Терпинен	1018	0,1	0,6	сл.	0,1	0,7	0,2	сл.
p-Цимен	1026	сл.	0,4	0,1	0,1	0,5	1,0	0,1
Лимонен	1031	0,3	0,3	0,6	0,3	0,1	сл.	0,1
1,8-Цинеол	1033	0,4	1,3	1,7	0,5	2,8	1,4	3,3
Z- β -Оцимен	1040	0,3	0,2	0,8	0,2	0,2	0,1	0,4
E- β -Оцимен	1050	0,1	1,1	0,1	0,2	0,6	0,3	0,9
γ -Терпинен	1062	-	0,1	-	-	0,8	-	0,1
Борнеол	1165	0,3	0,1	0,7	-	1,2	1,6	0,1
Терпинен-4-ол	1177	0,2	1,6	0,1	0,4	1,5	3,6	0,2
α -Терпинеол	1189	0,2	0,1	0,3	0,2	0,6	0,2	0,4
Лавандулил	1289	3,4	-	-	0,1	1,2	6,1	-
ацетат								
β -Кариофилен	1418	8,6	8,4	11,5	8,9	11,3	7,8	9,5
α -Хумулен	1454	1,1	1,0	1,5	1,1	1,3	0,8	1,0
Гермакрен Д	1480	2,4	1,2	4,0	3,0	3,2	2,5	1,9
α -Зингиберен	1495	1,3	1,4	2,0	1,7	1,7	1,3	1,9
δ -Кадинен	1524	0,4	0,4	0,7	0,5	0,7	0,3	0,4
Шпатуленол	1576	0,3	0,2	0,5	0,2	сл.	сл.	сл.
Кариофилен оксид	1581	1,6	1,3	1,9	1,7	1,9	1,2	1,3
Хамазулен	1725	59,0	29,8	44,3	59,4	25,6	3,7	25,6
Монотерпени		9,7	47,4	21,8	10,3	43,8	39,5	50,9
Монотерпеноиди		4,5	3,1	2,8	1,2	7,3	12,9	4,0

Сескитерпени	72,8	42,2	64,6	74,6	43,8	16,4	40,3
Сескитерпеноиди	1,9	1,5	2,4	1,9	1,9	1,2	1,3
Общо:	88,9	94,2	91,6	88,0	96,8	70,0	96,5
Съдържание на масло, % (мл/гр)	0,7	0,5	0,5	0,3	0,4	0,3	0,4

^a Ред на елуиране на колона HP-5MS; сл.=следи (<0,1%); * С неопределена стереохимия.



Фиг. 21. Дендрограма на етерични масла от *A.asplenifolia*

3.2.1.3. *A. collina*

Резултатът от ГХ и ГХ-МС анализа на 8 етерични масла от различни популации от *A. collina*, включващи компоненти над 0,1% са представени в Таблица 11. Идентифицирани са 75 компонента съставляващи от 69,0% до 95,6% от маслото. Основни компоненти (> 10% в поне едно от маслата) са β -пинен (17,6 и 20,2% в С5 и С6), 1,8-цинеол (21,3% в С7), α -туйон (16,1 в С2), камфор (17,8% в С7), борнеол (12,7, 15,5 и 13,0% съответно в С1, С2 и С3), лавандулил ацетат (11,1 и 10,2% в С1 и С4) гермакрен Д (10,1% в С5) и хамазулен, който присъства във всички проби без една (С2) и достига 22,3% в С4. Тези съединения могат да се приемат като характерни за изследвания вид. Резултатите от проведения клъстерен анализ са представени на Фигура 22. Както се вижда от дендрограмата, изследваните масла могат да бъдат

групираны в две основни групи А (С1, С3-6), и Б (С2, С7 и С8) в зависимост от количеството на хамазулен в тях.

Пробите включени в група А, се характеризират с високо съдържание на хамазулен (10,5-22,3%). Наблюдаваните качествени и количествени разлики между тези проби оформят две подгрупи. С1 и С4 се открояват с най-високо съдържание на хамазулен (20,8% и 22,3%), който е и основен компонент в тези етерични масла. Лавандулил ацетат е вторият характерен компонент (11,1% в С1 и 10,2% в С4). Този неправилен терпенов естер присъства макар и в ниски концентрации, в още 4 от изследваните масла. Наличието на последния в етерично масло от *A. collina* се съобщава за първи път още повече, че присъства в значително количество. Той е откриван в малки количества само в *A. millefolium* (Giorgi et al., 2005, Saeidnia et al., 2004) и *A. setacea* (Kusmenoglu et al., 1997). Двете проби се отличават помежду си по съдържанието на борнеол, който е 12,7% в С1 и едва 3,7% в С4. И в този случай, както много често, камфор съпътства присъствието на борнеол, но той е в много по-ниска концентрация и е едва 0,6% в С4. Други компоненти характеризиращи вида са β -кариофилен, който е в по-голямо количество в С1 (6,2%) и гермакрен Д, който е 7,7% в С4.

Проби С5 и С6 оформят втората подгрупа с умерено присъствие на хамазулен (около 14%) и основен компонент β -пинен (17,6 и 20,2%). α -Пинен, β -кариофилен, кариофилен оксид са общи за двете проби, регистрирани в съизмерими количества, докато 1,8-цинеол, камфор, борнеол са в пъти повече в С6 в сравнение с С5, а гермакрен Д е в по-голяма концентрация в С5. Изненадващо ниско за етерично масло от *A. collina* е съдържанието на камфор (0,6% и 4,6%) и борнеол (0,7% и 2,6%).

Проба С3 заема междинно положение в група А. Съдържанието на хамазулен е 10,5%, т.е. най-близо до това в подгрупата С5/С6. Много по-голямо, обаче е сходството на С3 с подгрупата С1/С4 по отношение на измереното количество на някои компоненти като α -пинен, β -пинен, борнеол, и гермакрен Д. С3 се отличава от пробите в група А по най-високо съдържание на камфор (7,7%), хризантемол (4,7%) и йомоги алкохол (2,0%). Последният е регистриран макар и в доста по-малко количество само в С8.

Пробите С2, С7 и С8, включени в група Б са бедни на хамазулен (0-2,6%). Други компоненти в приблизително еднакви концентрации в трите масла са само сабинен и терпинен-4-ол. Останалите варират в широки граници. Както се вижда от дендрограмата (Фиг. 21) С2, С7 и С8 се различават не само от тези в група А, но и

пomeжду си. Маслото от проба С2 е единственото несъдържащо хамазулен, а основни компоненти са α -туйон (16,1%), борнеол (15,5%) и 1,8-цинеол (9,8%). Само в тази проба са регистрирани α -туйон (2,2%), *транс*-пиперитол (0,5%), *транс*-карвеол (0,3%), кумин алдехид (0,3%), *p*-цимен-7-ол (0,5%) и сескисабинен Б (0,2%). Единствено в проба С7 1,8-цинеол (21,3%) е базов компонент. С изключение на β -пинен (8,0%) и α -терпинеол (5,6%) всички останали вещества в маслото са в по-ниски концентрации.

Проба С8 е с най-високо съдържание на камфор (17,8%) от изследваните проби и сравнително високо съдържание на 1,8-цинеол (7,2%) и хризантемол (6,4%). В тази проба не се регистрира наличието на борнеол и β -кариофилен, което не е характерно за етерични масла от *A. collina*. От друга страна е установено наличие на *p*-мент-1,5-диен-8-ол (3,6%), *транс*-вербенол (2,5%), вербенол (0,7%), *транс*-сабинен хидрат ацетат (0,2%), хризантемол ацетат (3,4%) и сескицинеол (1,5%), които отсъстват в останалите проби.

Химичният състав на проба С2 е много близък до този съобщен за изследвана популация от Сърбия (Chalchat et al., 2000), в която също не е намерен хамазулен. Съществена разлика със сръбската проба се наблюдава във високото съдържание на хризантенол, който отсъства в проба С2 и не е характерен компонент в етеричните масла не само от *A. collina*, но и за представители на групата *Millefolium*.

Монотерпеноидите сабинен, β -пинен, 1,8-цинеол, камфор, борнеол, терпинен-4-ол и сескитерпеноидите гермакрен Д, β -кариофилен, кариофилен оксид и хамазулен са характерни за изследваните проби и се откриват в значителни концентрации, което е и в съгласие с литературните данни (Chalchat et al., 2000, Maffei et al., 1993, Hofmann et al., 1992) за този вид *Achillea*.

Таблица 11. Химичен състав на етерични масла от *A. collina* (%)

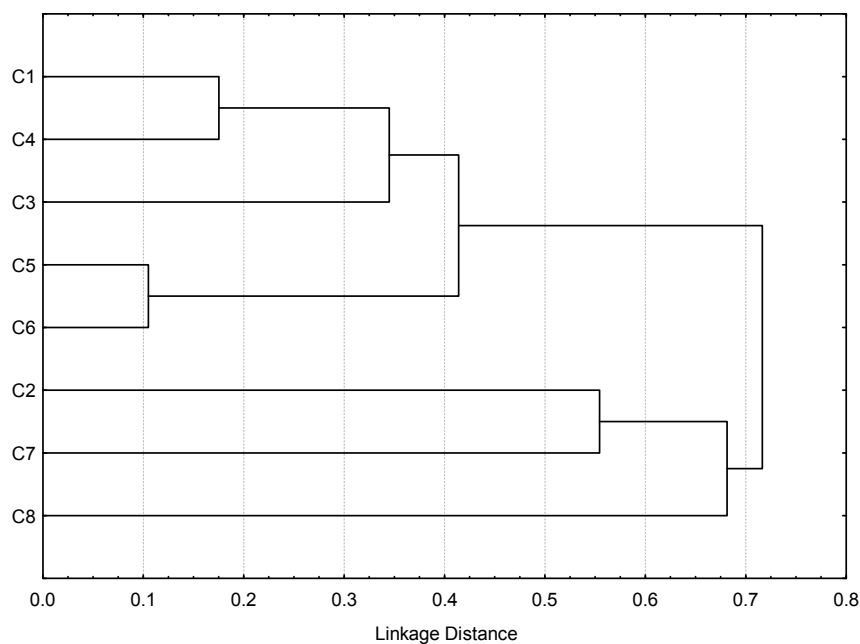
Компонент ^a	К.И.	С1	С2	С3	С4	С5	С6	С7	С8
Сантолина триен	908	-	0,2	0,4	-	0,1	-	-	0,8
Трициклен	926	0,1	0,1	-	-	сл.	-	-	сл.
α -Туйен	931	0,1	0,4	0,3	-	0,1	0,2	0,1	0,3
α -Пинен	939	1,7	0,6	1,2	сл.	4,8	6,5	2,3	2,6
Камфен	953	0,8	0,6	0,3	-	0,2	0,5	0,1	0,3
Сабинен	976	8,9	5,0	0,7	3,1	2,4	6,1	3,7	5,1
β -Пинен	980	5,8	1,8	3,9	4,3	17,6	20,2	8,0	2,1

Мирцен	991	0,2	0,3	0,1	сл.	4,1	0,2	0,1	сл.
1-Хептен-4-ол	995	-	-	0,1	сл.	сл.	-	-	-
Йомоги алкохол	998	-	-	2,0	-	-	-	-	0,3
α -Терпинен	1018	0,3	0,8	2,1	1,1	0,1	0,2	0,2	0,3
p -Цимен	1026	0,2	0,9	сл.	сл.	сл.	сл.	сл.	0,7
Лимонен	1031	сл.	сл.	0,4	0,4	0,7	0,6	0,3	0,6
1,8-Цинеол	1033	5,6	9,8	1,9	3,2	2,8	7,7	21,3	7,2
<i>цис</i> - β -Оцимен	1040	0,1	0,1	-	сл.	сл.	0,1	-	0,2
<i>транс</i> - β -Оцимен	1050	0,3	0,1	-	сл.	0,1	сл.	-	0,1
γ -Терпинен	1062	0,6	1,5	сл.	0,4	0,1	0,3	0,4	0,9
<i>цис</i> -Сабинен гидрат	1068	0,3	0,6	сл.	сл.	0,1	0,3	1,0	0,6
α -Терпинолен	1088	0,1	сл.	сл.	0,3	сл.	сл.	сл.	0,5
<i>транс</i> -Сабинен гидрат	1097	сл.	0,4	сл.	сл.	сл.	сл.	сл.	0,6
Линалол	1098	0,2	сл.	сл.	0,3	0,6	0,2	0,6	-
α -Туйон	1102	-	16,1	-	-	-	-	-	0,2
β -Туйон	1114	-	2,1	-	-	-	-	-	-
<i>цис</i> - p -Мент-2-ен-1-ол	1121	-	0,4	-	-	сл.	-	-	0,1
<i>транс</i> -Пинокарвеол	1139	0,1	-	0,4	-	-	-	-	-
<i>транс</i> -Сабинол	1140	-	1,2	-	0,1	0,2	0,1	0,1	0,3
Камфор	1143	3,2	3,4	7,7	0,6	0,6	4,6	2,3	17,8
<i>транс</i> -Вербенол	1144	-	-	-	-	-	-	-	2,5
Хризантемол		сл.	-	4,7	-	-	-	-	6,4
Пинокарвон	1162	0,4	-	-	0,6	0,1	-	-	-
Борнеол	1165	12,7	15,5	13,0	3,7	0,7	2,6	3,1	-
p -Мент-1,5-диен-8-ол	1166	-	-	-	-	-	-	-	3,6
Терпинен-4-ол	1177	1,4	3,5	0,3	0,9	0,4	1,2	3,2	2,8
α -Терпинеол	1189	0,8	1,1	0,8	1,6	1,2	2,0	5,6	2,2
Миртенол	1194	0,1	0,8	0,5	0,5	0,2	0,2	-	-
Вербенон	1204	-	-	-	-	-	-	-	0,7

<i>транс</i> -Пиперитол	1205	-	0,5	-	-	-	-	-	-
<i>транс</i> -Карвеол	1217	сл.	0,3	-	-	-	-	-	-
<i>изо</i> -Борнил формат		-	0,2	сл.	сл.	0,1	-	-	-
<i>транс</i> -Хризантенил ацетат	1235	0,8	-	1,1	сл.	сл.	-	сл.	-
Кумин алдегид	1239	-	0,3	-	-	-	-	-	-
4-Туйен-2-ил ацетат	1253	0,1	0,3	-	-	-	-	-	-
<i>транс</i> -Сабинен гидрат ацетат	1253	-	-	-	-	-	-	-	0,2
<i>цис</i> -Хризантенил ацетат	1262	0,2	-	-	-	0,1	-	0,3	0,3
Хризантемол ацетат		-	-	-	-	-	-	-	3,4
Борнил ацетат	1285	0,6	0,3	-	0,8	0,2	-	0,4	-
<i>p</i> -Цимен-7-ол	1287	-	0,5	-	-	-	-	-	-
Лавандулил ацетат	1289	11,1	-	0,6	10,2	0,1	0,3	0,3	-
<i>p</i> -Мент-1,4-диен-7-ол	1332	-	0,3	сл.	сл.	0,1	0,1	-	0,1
<i>транс</i> -Карвил ацетат	1337	0,4	0,2	0,5	-	-	-	0,5	-
Нерил ацетат	1365	-	-	0,6	t	t	-	0,8	-
Терпинен-4-ол ацетат	1340	0,7	сл.	-	-	-	-	-	-
β -Бурбонен	1384	0,2	-	0,6	1,0	0,5	-	0,1	-
β -Кариофилен	1418	6,2	1,4	4,9	1,6	4,4	3,2	0,8	
Сескисабинен Б	1412	-	0,2	-	-	-	-	-	-
Аромадендрен	1438	0,2	-	-	-	-	-	-	-
α -Хумулен	1454	0,8	0,2	0,7	0,7	0,6	0,5	0,1	0,5
<i>allo</i> -Аромадендрен	1461	0,2	-	0,2	-	0,1	0,1	0,1	сл.
Гермакрен Д	1480	3,0	1,1	6,0	7,7	10,1	2,8	4,2	2,0
α -Зингиберен+	1495	1,0	-	1,0	-	0,6	0,1	-	-
Бициклогермакрен α -Селинен	1494	0,1	сл.	-	-	0,6	0,2	0,7	-

γ-Кадинен	1513	0,2	-	-	-	-	-	-	-
Сескицинеол	1514	-	-	-	-	-	-	-	1,5
δ-Кадинен	1524	0,5	0,2	-	-	1,4	1,0	0,3	0,4
Гермакрен Д-4-ол	1574	0,2	-	-	-	-	-	-	-
Шпатуленол	1576	0,2	0,2	-	1,0	0,3	0,5	1,2	0,8
Кариофилен оксид	1581	2,0	5,9	3,3	2,5	3,3	2,0	2,7	2,1
Гуайол	1595	1,3	0,9	сл.	3,1	1,3	3,2	сл.	0,4
γ-Муролол	1641	0,7	1,2	0,1	0,1	-	сл.	сл.	0,1
Хамазулен	1725	20,8	-	10,5	22,3	13,8	14,2	2,6	1,8
Бизаболон*		0,1	-	сл.	2,6	0,4	0,1	1,5	0,6
Хексадеканова киселина		-	сл.	сл.	8,8	0,2	t	-	0,7
Монотерпени		19,2	12,4	11,4	9,6	30,3	34,9	15,2	14,8
Монотерпеноиди		38,7	57,5	32,1	22,5	7,5	19,3	39,5	49,0
Сескитерпени		33,2	3,1	23,9	33,3	32,1	22,1	8,9	4,7
Сескитерпеноиди		4,5	8,2	3,4	9,3	5,3	5,8	5,4	5,5
Други		-	0,3	0,1	8,8	0,2	-	-	0,7
Общо:		95,6	81,5	70,9	83,5	75,4	82,1	69,0	74,7
Съдържание на масло, % (мл/гр)		0,63	0,28	0,40	0,35	0,40	0,44	0,38	0,25

^a Ред на елуиране на колона HP-5MS; сл.=следи (<0,1%); * С неопределена стереохимия.



Фиг. 22. Дендрограма на етерични масла от *A. collina*

3.2.1.4. *A. distans*

Резултатите от ГХ и ГХ-МС анализа на 4 етерични масла от *A. distans*, събрана от две местообитания в Стара планина - Беклемето (DIS1 и DIS2) и връх Юмрука (DIS3 и DIS4), включващи компоненти над 0,1 % са представени в Таблица 12. Идентифицирани са 44 компонента, съставляващи от 75,5% до 93,5% от маслото. Както се вижда, етеричните масла са богати на монотерпеноиди (58,8-82,7%) и сравнително бедни на сескитерпеноиди (6,2-13,5%). Кислород-съдържащите монотерпени преобладават и достигат до 60,5%, като основни сред тях са 1,8-цинеол (4,5- 22,1%) и камфор (1,9-6,8%). Сабинен (3,8-8,2%) и β -пинен (3,9-7,2%) пък са доминиращи сред монотерпеновите въглеводороди. Представените в Таблица 10 данни демонстрират сходство в качествения състав на пробите от едно и също местообитание, т.е. между DIS1 и DIS2 и съответно DIS3 и DIS4, но количествените разлики на характерни компоненти не позволяват групирането им по местообитание. Наблюдаваните зависимости между четирите изследвани проби е отразено в дендрограмата на Фиг. 23. Както се вижда, пробите DIS3 и DIS4 са най-близко разположени по линията на сходство. В тези проби основният компонент е 1,8-цинеол (17,3 и 22,1%) следван от борнил ацетат (15,2% и 18,5%). Друга отличителна черта е по-високият процент на терпинен-4-ол (8,5% и 4,3%) и миртенол (8,5% и 5,1%), както и отсъствието на β -туйон, *цис*-*p*-мент-2-ен-1-ол, *p*-

цимен-7-ол, *цис*- и *транс*-хризантенил ацетат и хамазулен. Високото съдържание на 1,8-цинеол (16,8%) доближава DIS2 до DIS3 и DIS4, но запазва относителна самостоятелност поради съществени различия в качествения състав, дискутиран по-горе. DIS1 е с най-голямо разстояние по линията на сходство от останалите проби (Фиг. 23). В нея не присъстват ясно изразени основни компоненти. Само α -туйон, камфор и неролидол са регистрирани в концентрации около 7%. Между пробите от Беклемето (DIS1 и DIS2) се наблюдава сходство в качествения състав, но някои количествени разлики не позволяват тяхното групиране като например 1,8-цинеол (4,5% в DIS1 спрямо 16,8% в DIS2), α -туйон (7,8 и 0,6%), неролидол (7,1 и 2,8%), β -сидесмол (3,4 и 1,5%). β -туйон (4,7% и 9,8%) и др.

Както и при другите изследвани видове се наблюдава вътревидова изменчивост по отношение на етеричномасления състав на *A. distans*, но ограниченият брой изследвани проби не позволява извеждане на представителни хемотаксономични зависимости.

Всички идентифицирани компоненти в изследваните от нас етерични масла са открити и в етерично масло от *A. distans* от района на северна Италия (Maffei et al., 1993), но се наблюдават и известни различия. Така например, липсва бизаболол оксид в българските проби, а в италианската неговото съдържание е 30,2%. В четирите изследвани от нас проби се установява, макар и в неголеми количества, лавандулил ацетат (0,4 - 1,4%), докато в италианската този компонент напълно отсъства.

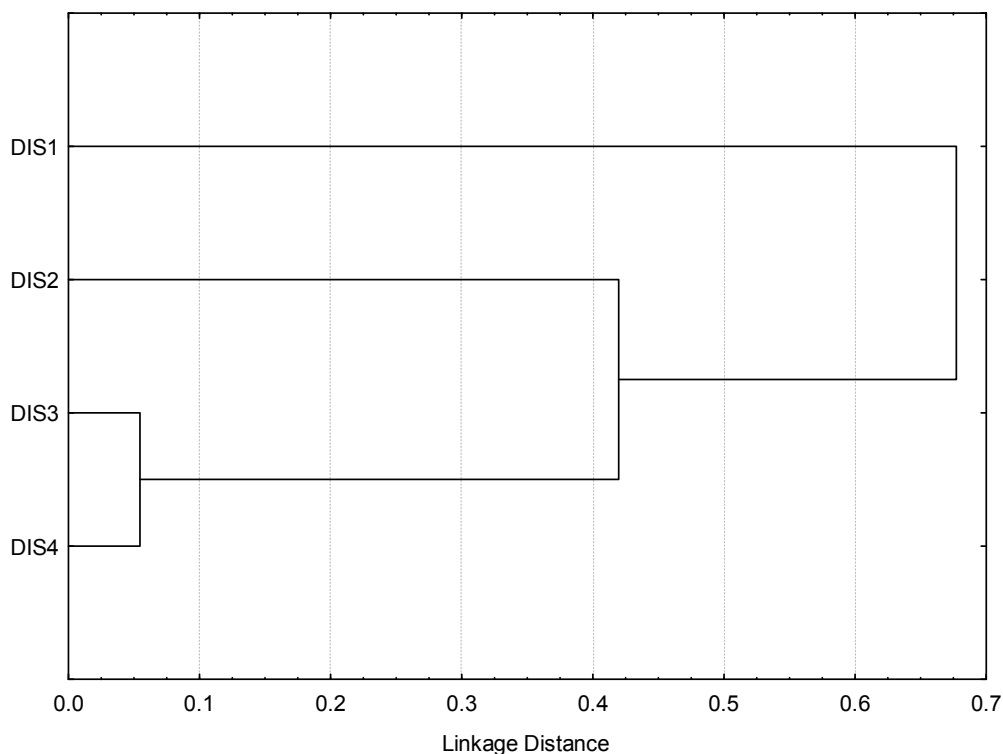
Таблица 12. Химичен състав на етерични масла от *A. distans* (%)

Компонент ^a	KI	DIS 1	DIS 2	DIS 3	DIS 4
Сабина триен	908	сл.	0,1	0,1	сл.
Трициклен	926	сл.	0,1	0,1	0,1
α -Туйен	931	0,1	0,4	0,1	-
α -Пинен	939	1,1	5,1	1,6	2,6
Камфен	953	0,8	1,9	1,9	2,5
Сабинен	976	5,5	8,2	3,8	7,8
β -Пинен	980	3,9	6,5	5,9	7,2
Мирцен	991	0,1	0,4	0,3	0,3

α -Феландрен	1005	0,3	0,1	0,3	0,4
α -Терпинен	1018	0,5	0,4	0,5	0,2
p-Цимен	1026	0,7	0,3	0,6	0,2
1,8-Цинеол	1033	4,5	16,8	17,3	22,1
γ -Терпинен	1062	0,5	1,0	0,7	0,5
Артемизия кетон	1062	сл.	0,3	-	-
<i>цис</i> -Сабинен гидрат	1068	0,4	0,3	0,7	1,0
Терпинолен	1088	0,1	0,2	0,1	0,1
Линалол	1098	3,3	2,1	0,7	0,3
α -Туйон	1102	7,8	0,6	0,1	0,3
β -Туйон	1114	4,7	9,8	-	-
<i>цис</i> -p-мент-2-ен-1-ол	1121	2,3	1,2	-	-
Хризантенон	1123	0,6	0,5	-	-
Терпинен-1-ол	1134	1,8	0,9	0,5	0,4
Камфор	1143	6,8	5,8	2,4	1,9
Борнеол	1165	4,0	7,5	0,9	0,9
Терпинен-4-ол	1177	1,1	1,6	8,5	4,3
α -Терпинеол	1189	2,7	3,0	4,3	2,3
Миртенол	1194	1,0	0,7	8,5	5,1
<i>цис</i> -Пиперитол	1194	1,4	0,7	0,7	0,8
<i>транс</i> -Хризантенил ацетат	1235	0,3	0,6	-	-
<i>цис</i> -Хризантенил ацетат	1262	сл.	2,3	-	-
Борнил ацетат	1285	0,8	1,6	15,2	18,5
p-Цимен-7-ол	1287	1,1	0,3	-	-
Лавандулил ацетат	1289	0,4	1,4	0,6	0,6
β -Кариофилен	1418	1,9	1,5	1,7	3,2
Гермакрен Д	1480	0,7	1,6	1,1	3,7
Неролидол *		7,1	2,8	0,6	0,4
Шпатуленол	1576	-	0,4	0,7	0,3
Кариофилен оксид	1581	3,5	0,8	1,8	0,8
Виридифлорол	1590	сл.	0,2	0,3	сл.
γ -Ейдесмол	1630	сл.	1,0	2,7	1,1

ері- α -Муролол	1641	-	0,5	0,4	-
β -Ейдесмол	1649	3,4	1,5	0,3	0,6
α -Кадинол	1653	-	0,3	0,1	-
Хамазулен	1725	0,3	0,5	-	-
Монотерпени		13,6	24,7	16,0	21,9
Монотерпеноиди		45,0	58,0	60,4	58,5
Сескитерпени		2,9	3,6	2,8	6,9
Сескитерпеноиди		14,0	7,5	6,9	3,2
Общо:		75,5	93,8	86,1	90,5
Съдържание на масло, % (мл/гр)		0,14	0,18	0,20	0,23

^a Ред на елуиране на колона HP-5MS; сл.=следи (<0,1%); * С неопределена стереохимия.



Фиг. 23. Дендрограма на етерични масла от *A. distans*

3.2.2. Влияние на методите за изолиране на етерични масла върху количеството и качеството на маслото

Начинът на получаване е съществен фактор, влияещ върху състава на някои етерични масла. Проведено е сравнително изследване на съдържанието и на химичния състав на етерични масла, изолирани чрез водна дестилация (ВД) по метода на

Клевенджер, парна дестилация (ПД) и микродестилация с водна пара и едновременна непрекъсната екстракция на дестилата с диетилов етер (МЕ) по метода на Ликенс-Никерсон. Използван е култивиран растителен материал от *A. collina* в опитното поле на ИБЕИ-БАН, с цел избягване на вариации в химичния състав в резултат от вътревидова изменчивост или екологични условия при развитие на растенията. Получените резултати са представени в Табл. 13.

Съдържанието на етерично масло в зависимост от метода за дестилиране варира в тесни граници. Както може да се очаква, по метода на Ликенс-Никерсон е изолирано по-голямо количество масло (0,67%) в сравнение с другите два метода (0,58 и 0,50%). Този резултат може да се обясни с това, че първото е екстракционно масло, а другите две са декантирани масла, т.е. при тях в дестилационните води остава разтворено или фино емулгирано масло, което не се разделя.

От получените резултати се вижда, че няма разлика в качествения състав (49 компонента) на получените етерични масла независимо от метода за изолирането им. Наблюдаваните разлики в количествения състав от практическа гледна точка може да се каже, че са незначителни. Така например съдържанието на хамазулен, важен компонент на етеричните масла от бял равнец е от един и същ порядък при двата вида дестилация (съответно 23,4 и 22,9% при водна и 21,1% при парна дестилация). Съдържанието на другият основен компонент, лавандулил ацетат също варира в тесни граници. Съдържанието му в маслото изолирано, чрез парна дестилация е малко по-високо (13,3%) за разлика от другите два метода (11,0 и 12,2%). При останалите основни компоненти на маслото също не се наблюдават големи вариации в съдържанието им – борнеол (13,1%, 12,2% и 14,1%), сабинен (9,2%, 8,9% и 8,1%), 1,8-цинеол (5,2%, 5,6% и 6,7%) и β -пинен (6,2%, 5,9% и 5,5%).

Може да се направи заключение, че в конкретния случай (етерично масло от *Achillea*) избора на метод за изолиране на етеричното масло не е от решаващо значение относно качествения и количествен състав на получената проба. Това дава възможност за сравняване на литературни данни от различни източници, провеждане на сравнителни изследвания на ниво растение, както и интерполация на получените резултати от отделните методи с висока степен на достоверност. Тези наши заключения са в съгласие с получените резултати от Tuberoso & Kowalczyk (2009), които провеждат

сравнително изследване на водна дестилация, непрекъснатата дестилация и екстракция и микровълнова екстракция на етерично масло от *A. millefolium* L.

Таблица. 13. Химичен състав на етерични масла от *A. collina* получени по три различни метода за изолиране - водна дестилация (ВД), парна дестилация (ПД) и микродестилация екстракция (МЕ).

Компонент ^a	К.І.	ВД	ПД	МЕ
Трициклен	926	0,1±0,005	сл.	0,1±0,005
α-Туйен	931	сл.	сл.	0,1±0,005
α-Пинен	939	1,9±0,09	1,6±0,08	1,2±0,06
Камфен	953	1,0±0,05	1,2±0,06	0,5±0,02
Сабинен	976	9,2±0,46	8,9±0,44	8,1±0,40
β-Пинен	980	6,2±0,31	5,9±0,29	5,5±0,27
Мирцен	991	0,1±0,005	0,1±0,005	сл.
α-Терпинен	1018	0,5±0,02	0,7±0,03	0,3±0,01
p-Цимен	1026	0,1±0,005	0,1±0,005	сл.
Лимонен	1031	сл.	0,1±0,005	сл.
1,8-Цинеол	1033	5,2±0,26	5,6±0,28	6,7±0,335
цис-β-Оцимен	1040	0,2±0,01	0,3±0,01	0,1±0,005
транс-β-Оцимен	1050	0,4±0,02	0,6±0,03	0,3±0,01
γ-Терпинен	1062	0,8±0,04	0,9±0,04	0,5±0,02
цис-Сабинен хидрат	1068	0,4±0,02	0,3±0,01	0,4±0,02
α-Терпинолен	1088	0,1±0,005	0,3±0,01	сл.
Линалол	1098	0,2±0,01	0,1±0,005	0,6±0,03
транс-Пинокарвеол	1139	0,2±0,01	0,1±0,005	0,4±0,02
Камфор	1143	3,0±0,15	2,6±0,13	3,3±0,16
Хризантемол		сл.	сл.	0,2±0,01
Пинокарвон	1162	0,2±0,01	0,1±0,005	0,4±0,02
Борнеол	1165	13,1±0,65	12,2±0,61	14,1±0,70
Терпинен-4-ол	1177	1,1±0,055	1,2±0,06	1,4±0,07
α-Терпинеол	1189	0,9±0,045	0,6±0,03	1,2±0,06

Миртенол	1194	0,2±0,01	0,1±0,005	0,3±0,01
<i>транс</i> -Хризантенил ацетат	1235	0,6±0,03	0,8±0,04	1,1±0,055
4-Туйен-2-ил ацетат	1253	сл.	0,1±0,005	0,1±0,005
<i>цис</i> -Хризантенил ацетат	1262	0,1±0,005	0,2±0,01	0,4±0,02
Борнил ацетат	1285	0,5±0,02	0,5±0,02	0,7±0,03
Лавандулил ацетат	1289	11,0±0,55	13,3±0,65	12,2±0,62
<i>транс</i> -Карвил ацетат	1337	0,3±0,01	0,5±0,02	0,3±0,01
Терпинен-4-ол ацетат	1340	0,5±0,02	0,8±0,04	0,3±0,01
β-Бурбонен	1384	0,1±0,005	0,2±0,01	0,2±0,01
β-Кариофилен	1418	7,1±0,35	8,2±0,41	5,1±0,25
Аромадендрен	1438	0,1±0,005	0,2±0,01	сл.
α-Хумулен	1454	0,7±0,03	0,9±0,04	0,5±0,025
<i>allo</i> -Аромадендрен	1461	0,3±0,01	0,1±0,005	0,1±0,005
Гермакрен Д	1480	4,0±0,02	5,3±0,26	2,9±0,14
α-Зингиберен+ Бициклогермакрен	1495	0,9±0,04	0,6±0,03	1,2±0,06
α-Селинен	1494	0,1±0,005	сл.	0,1±0,005
γ-Кадинен	1513	0,1±0,005	сл.	0,2±0,010
δ-Кадинен	1524	0,2±0,01	0,5±0,040	сл.
Гермакрен Д-4-ол	1574	0,1±0,005	сл.	сл.
Шпатуленол	1576	0,3±0,01	0,2±0,010	0,5±0,025
Кариофилен оксид	1581	1,2±0,06	1,4±0,07	2,0±0,10
Гуайол	1595	1,0±0,05	0,8±0,04	1,3±0,06
γ-Муролол	1641	0,5±0,02	0,7±0,03	1,2±0,06
Хамазулен	1725	23,4±1,1	21,1±1,1	22,9±1,1
Бизаболон*		0,1±0,005	сл.	сл.
Съдържание на масло, % (мл/гр)		0,58	0,50	0,67

ОБОБЩЕНИ ИЗВОДИ

1. Получени и изследвани са етеричните масла от 7 сорта лавандула („Дружба“, „Хемус“, „Севтополис“, „Юбилейна“, „Хебър“, „Рая“ и „Карлово“), отгледани при еднакви почвени, агротехнически и климатични условия. Установено е, че всички те се характеризират с високо съдържание на етерично масло с изключение на сорт „Карлово“.
2. Изследван е детайлно химичният състав на етеричните масла от седемте най-разпространени български сорта лавандула. Идентифицирани са 46 съединения, от които 12 се съобщават за първи път като компоненти на българско лавандулово масло.
3. Фазата на цъфтеж на лавандуловите съцветия, след 30 – 40 % степен на цъфтеж не оказва съществено влияние на етеричномасленото съдържание при изследваните сортове лавандула, докато количествата на индивидуалните компоненти варира. Установено е, че съдържанието на терпинен-4-ол, е високо в етеричното масло от сорт „Юбилейна“.
4. Присъствието само на (R)-(-)-линалил ацетат и отсъствието на (S)-(+)-изомера в изследваните проби потвърждава, че високата енантиомерна чистота на линалил ацетата е обективен критерий за автентичност на лавандуловото масло.
5. Определен е химичният състав на етерични масла от четири вида бялоцъфтяща *Achillea* (*A. crithmifolia*, *A. asplenifolia*, *A. collina* и *A. distans*). Идентифицирани са общо 91 компонента в съдържание над 0,1%.
6. Установено е, че начинът на получаване на етеричното масло от *A. collina* не влияе върху количествения и качествения му състав.
7. Установена е значителна вътревидова изменчивост по отношение на химичния състав на етеричните масла за всеки изследван вид. Въпреки това, на база на качествени и количествени разлики в етеричномасления профил, във всички видове се наблюдават смесени многокомпонентни хемотипове.
 - *A. distans* – 1,8-цинеол / борнил ацетат и цинеол/камфор/борнеол
 - *A. collina* – хамазулен/лавандулил ацетат; хамазулен/ β -пинен; 1,8-цинеол/камфор/бедни на хамазулен; несъдържащи хамазулен/ α -туйон/борнеол

- *A. asplenifolia* – чист хамазуленов хемотип (над 50% хамазулен); хамазулен/сабинен и или β -пинен.
- *A. crithmifolia* - артемизиа алкохол/ йомоги алкохол; 1,8-цинеол/камфор

ПРИНОСИ

1. Определено е количественото съдържание на етерично масло в българските сортове лавандула „Дружба“, „Хемус“, „Севтополис“, „Юбилейна“, „Хебър“, „Рая“ и „Карлово“. Ниското съдържание на масло в сорт „Карлово“ го прави неподходящ за промишлено производство на лавандулово масло.
2. Резултатите от детайлното изследване на етерични масла от 7-те сорта лавандула показват, че няма съществена разлика в качествения им състав. Установеното вариране в количествата на някои компоненти ще позволи предварително планиране на сортовия състав на новосъздавани насаждения.
3. Поради установеното високо съдържание на терпинен-4-ол в масло от сорт „Юбилейна“, последния не се препоръчва за масово отглеждане, тъй-като този компонент влошава ароматичните качества на маслото.
4. Изследването на количеството етерично масло в зависимост от фазата на цъфтеж показва, че стартирането на жътвата може да започне при 30-40% степен на цъфтеж, но по отношение на качествения състав на етеричното масло най-балансиран за сортове „Рая“ и „Дружба“ е при 50 – 75% степен на цъфтеж и 70 – 90 % за останалите сортове.
5. Резултатите показват, че с изключение на единични проби представителите на група *Millefolium* продуцират хамазулен, а *A. crithmifolia*, която е бялоцъфтяща, но не е в тази група не съдържа и следи от това вещество.
6. На базата на качествени и количествени разлики е установена значителна вътревидова изменчивост за всички изследвани видове. Най-изразена е при *A. collina*, вероятно поради най-широкото ѝ разпространение и склонност към хибридизация с други видове *Achillea*.
7. За пръв път е установено в представител на група *Millefolium* (*A. asplenifolia*) със съдържание на хамазулен в етеричното масло над 59%.
8. Установено е, че количеството на хамазулен в етеричното масло се запазва независимо от начина на дестилация (парна и водна).

Публикации във връзка с дисертацията:

1. **A. Konakchiev**, M. Todorova, B. Mikhova, A. Vitkova, Hristo Najdenski, Composition and Biological Activity of *Achillea distans* W. et K. Essential Oil, Nat. Prod. Commun., **5** (3), 1-3, 2010. (IF: 0.92)
2. **A. Konakchiev**, M. Todorova, B. Mikhova, A. Vitkova, H. Najdenski, H. Duddeck, Chemical composition and antimicrobial activity of the essential oil from two *Achillea collina* Becker. Comptes rendus de l' Academie bulgare des Sciences., **59** (5), 505-510, 2006.
3. K.H.C. Baser, T. Ozek, **A. Konakchiev**, Enantiomeric distribution of linalool, linalyl acetate and camphor in Bulgarian Lavender oil, J. Essent. Oil Res., **17** (2), 135-136, 2005. (IF: 0.4)
4. A. Vitkova, M. Anchev, V. Goranova, M. Todorova, **A. Konakchiev**, *Achillea millefolium* group in Bulgaria. Pharmacia. v.**LII**, 1-2:60-63, 2005.
5. **A. Konakchiev**, B. Mikhova, M. Todorova, H. Najdenski, I. Tzvetkova, A. Vitkova, H. Duddeck, Composition of the essential oil of *Achillea asplenifolia* Vent. From Bulgaria. Journal of Essential Oil Bearing Plants, **8** (3), 318-323, 2005. (IF: 0.19)
6. **A. Konakchiev**, A. Vitkova, Essential oil composition of *Achillea crithmifolia* Waldst. et Kit, Journal of Essential oil Bearing Plants, **7** (1), 32-36, 2004. (IF: 0.19)
7. **A. Konakchiev**, E. Tsankova, Composition of essential oils of some Bulgarian Lavender sorts. "Food science, technique and technologies 2004", Plovdiv, October 27-29, 2004, Scientific works, **51** (3), 168-171, 2004.
8. J. Saukel, M. Anchev, Y. Guo, A. Vitkova, A. Nedelcheva, V. Goranova, **A. Konakchiev**, M. Lambrou, S. Nejati, F. Rauchensteiner, F. Ehrendorfer, Comments on the biosystematics of *Achillea* (*Asteraceae-Anthemideae*) in Bulgaria, Phytologia balcanica, **9** (3), 361-400, 2003.

Забелязани цитати:

Статия 1:

1. Benedec, D., Vlase, L., Oniga, I., Mot, A.C., Damian, G., Hanganu, D., Duma, M., Silaghi-Dumitrescu, R. 2013. Polyphenolic composition, antioxidant and antibacterial activities for two Romanian subspecies of *Achillea distans* Waldst. et Kit. ex Willd. *Molecules*, **18 (8)**: 8725-8739.
2. Abad, M.J., Bedoya, L.M., Bermejo, P. 2013. Essential oils from the Asteraceae family active against multidrug-resistant bacteria. – In: Ray, M. & Kon, K. *Fighting Multidrug Resistance with Herbal Extracts, Essential Oils and their Components*, 1st edition, Academic Press. 205-221.
3. Jemia, M.B., Rouis, Z., Maggio, A., Venditti, A., Bruno, M., Senatore, F. 2013. Chemical composition and free radical scavenging activity of the essential oil of *Achillea ligustica* growing wild in Lipari (aeolian islands, Sicily). *Nat. Prod. Commun.*, **8 (11)**: 1629-1632.
4. Abad, M.J., Bedoya, L.M., Apaza, L., Bermejo, P. 2012. The *Artemisia* L. genus: A review of bioactive essential oils. *Molecules*, **17 (3)**: 2542-2566.
5. Hussin, W.A., El-Sayed, W.M. 2011. Synergic interactions between selected botanical extracts and tetracycline against gram positive and gram negative bacteria. *Journal of Biological Sciences*, **11 (7)**: 433-441.

Статия 3:

1. Yang, D.S., Son, K.-C., Kays, S.J. 2009. Volatile organic compounds emanating from indoor ornamental plants. *HortScience*, **44 (2)**: 396-400.
2. Стоянова, А., Балинова-Цветкова, А. и Георгиев, Е. 2009. Лавандула. Получаване на етеричномаслени продукти в България. Изд. Агенция 7Д, Пловдив.
3. Георгиев, Е., Стоянова, А. 2006. Справочник на специалиста от ароматичната промишленост. – Изд. БНАЕМПК, Пловдив..

Статия 5:

1. Kindlovits, S., Németh, É. 2012. Sources of variability of yarrow (*Achillea* SPP.) essential oil. *Acta Alimentaria*, **41 (SUPPL. 1)**: 92-103.

Статия 6:

1. Kindlovits, S., Németh, É. 2012. Sources of variability of yarrow (*Achillea* SPP.) essential oil. *Acta Alimentaria*, **41 (SUPPL. 1)**: 92-103.

Статия 7:

1. Zhekova, G.& Nedkov, N. 2010. Quantitative changes in major components of lavender oil during the distillation process. – *Agricultural Science and Technology*, **2(1)**: 26-28.

2. Стоянова, А., Балинова-Цветкова, А. и Георгиев, Е. 2009. Лавандула. Получаване на етеричномаслени продукти в България. Изд. Агенция 7Д, Пловдив.

3. Георгиев, Е., Стоянова, А. 2006. Справочник на специалиста от ароматичната промишленост. – Изд. БНАЕМПК, Пловдив.

Статия 8:

1. Akyaçın, H., Arabacı, T., Yıldız, B. 2014. Pollen morphology of some *Achillea* L. sect. *Babounya* (DC.) O. Hoffm. (Asteraceae) species from Turkey. *Acta Botanica Gallica*, **161 (2)**: 129-149.

2. Aksu, N., Inceer, H., Hayirlioğlu-Ayaz, S. 2013. Karyotype analysis of six *Achillea* L. (Asteraceae, Anthemideae) taxa from Turkey. *Caryologia*, **66 (2)**: 103-108.

3. Paule, J., Scherbantin, A., Dobeš, C. 2012. Implications of hybridisation and cytotypic differentiation in speciation assessed by AFLP and plastid haplotypes - A case study of *Potentilla alpicola* la Soie. *BMC Evolutionary Biology*, **12 (1)**, art. no. 132.

4. Dunkel, F.G., Gregor, T., Meierott, L. 2012. *Achillea roseoalba* - a long ignored relict in Germany. Feddes Repertorium, **122 (3-4)**: 268-274.
5. Ebrahim, F., Pakniyat, H., Arzani, A., Rahimmalek, M. 2012. Karyotype analysis and new chromosome number reports in *Achillea* species. Biologia, **67 (2)**:284-288.
6. Šarić-Kundalić, B., Dobeš, C., Klatte-Asselmeyer, V., Saukel, J. 2011. Ethnobotanical survey of traditionally used plants in human therapy of east, north and north-east Bosnia and Herzegovina. Journal of Ethnopharmacology, **133 (3)**: 1051-1076.
7. Radulović, N.S., Blagojević, P.D., Skropeta, D., Zarubica, A.R., Zlatković, B.K., Palić, R.M. 2010. Misidentification of tansy, *Tanacetum macrophyllum*, as yarrow, *Achillea grandifolia*: A health risk or benefit? Natural Product Communications, **5 (1)**: 121-127.
8. Sheidai, M., Azanei, N., Attar, F. 2009. New chromosome number and unreduced pollen formation in *Achillea* species (Asteraceae). Acta Biologica Szegediensis, **53 (1)**: 39-43.
9. Kozuharova, E. 2009. New ex situ collection of rare and threatened medicinal plants in the Pirin Mts. (Bulgaria). Ekoloji, **19 (72)**: 32-44.
10. Çelik, N., Akpulat, H.A. 2008. *Achillea sivasica* (Asteraceae: Sect. Babounya (DC.) O. Hoffm.), a new species from Inner Anatolia, Turkey. Kew Bulletin, **63 (3)**: 485-489.
11. Bozin, B., Mimica-Dukic, N., Bogavac, M., Suvajdzic, L., Simin, N., Samojlik, I., Couladis, M. 2008. Chemical composition, antioxidant and antibacterial properties of *Achillea collina* Becker ex Heimerl s.l. and *A. pannonica* Scheele essential oils. Molecules, **13 (9)**: 2058-2068.
12. Kiran, Y., Arabaci, T., Sahin, A., Turkoglu, I. 2008. Karyological notes on another eight species of *Achillea* (Asteraceae) from Turkey. Biologia, **63 (3)**: 343-348.

ИЗПОЛЗВАНИ СЪКРАЩЕНИЯ

Съкращения на кирилица

ГХ – газова хроматография

ГХ-ИЧ - газова хроматография - инфрачервена спектроскопия

ГХ-МС – газова хроматография – масспектрометрия

ИЧ – инфрачервена спектроскопия

КХ – колонна хроматография

МС – мас-спектрометрия

ТСХ – тънкослойна хроматография

УВ – ултравиолетова спектроскопия

ЯМР – ядреномагнитен резонанс

Съкращения на латиница

MDGC - мултидименсионална газова хроматография

I.D. – вътрешен диаметър

RSD – относително стандартно отклонение