



коробочка с многочисленными мелкими семенами. Большинство бегоний обильно цветёт в течение всего лета, а при соответствующем уходе — осенью и зимой. Бегонии размножаются семенным и вегетативным способами. Их отличительной особенностью является необыкновенно развитая способность к вегетативному размножению. Они могут легко размножаться листовыми и стеблевыми черенками, отрезками корневищ и даже частями листа. В лабораторных условиях новые растения удаётся вырастить из кусочков листа, состоящих всего из нескольких десятков клеток [9].

Бегония металлическая — *B. metallica*. Кустовидное сильноветвящееся растение до 1,5 м высотой, с красноватыми, беловато-опушёнными стеблями. Листья 10–15 см в длину, 5–8 см в ширину, яйцевидные, неравномерно зубчатые, опушённые, сверху оливково-зелёные с яркими красными жилками и металлическим блеском, снизу пурпурные, на длинных (до 15 см) опушённых черешках. Цветки розовые, с ярким опушением. Родина — Бразилия. Растёт во влажных тропических лесах [10].

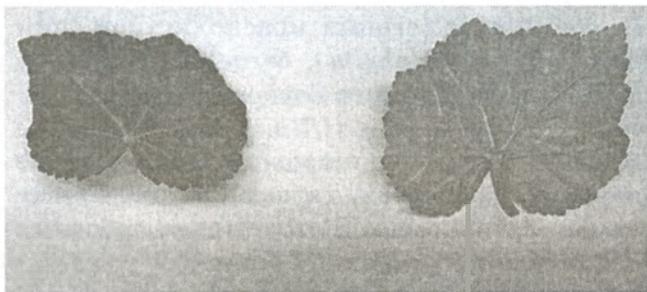


Рисунок 1 — Бегония металлическая (*B. metallica*)

Бегония краснолистная, или Фиста, — *B. erythrophylla*. Декоративно-лиственное растение. Листья неопушённые, тёмно-

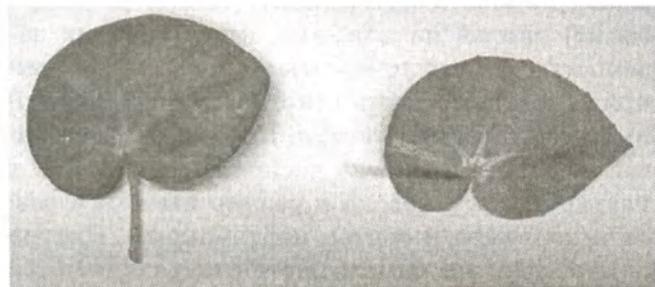


Рисунок 2 — Бегония краснолистная, или Фиста (*B. erythrophylla*)

зелёного цвета, блестящие, косо-округлой формы. Нижняя сторона листа интенсивно красная, отсюда эта бегония и получила латинское название. Листья расположены на светло-зелёных голых черешках. Стебель короткий и мясистый, светло-зелёного цвета, прижатый к почве. Бегония краснолистная — теневыносливое и в меру теплолюбивое растение. Родина — Южная Америка [11].

Бегония манжетная — *B. manicata*. Травянистое растение кустовидной формы. Может достигать 1 м в высоту. Стебель водянистый, толстый, извилистый, покрытый тонкими красными волосками. Листья крупные, с зубчатыми краями, округлой формы. Верхняя сторона листа насыщенного светло-зелёного цвета со светлыми жилками. Нижняя сторона листа светлая. Листья собраны в прикорневую розетку. Цветки ярко-розовые, многочисленные, собраны на длинном цветоносе [12].

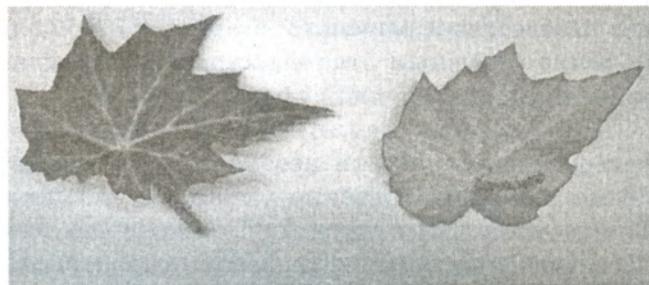


Рисунок 3 — Бегония манжетная (*B. manicata*)

Бегония Бауэра — *B. boweri*. Невысокое растение (до 30 см в высоту). Листья зубчатые, сетчатые, щитовидной или округлой формы, расположены на прикорневой розетке, корневище округлое. Листья преимущественно тёмно-зелёные. Края листьев покрыты волосками. Нижняя поверхность имеет частично бордовую окраску. Цветки белого цвета [13].



Рисунок 4 — Бегония Бауэра (*B. boweri*)

Бегония Гриффита — *B. griffithii*. Травянистое растение 30–50 см в высоту с толстыми короткими лежачими стеблями. Листья на длинных (30–40 см) черешках, асимметричные, широкояйцевидные, со слабо заострённой верхушкой и двумя перекрывающимися друг друга лопастями в основании листа, по краю волнистые или городчатые, тёмно-оливково-зелёные в центре и по краю с широкой серебристой зоной, снизу красноватые со светло-зелёной зоной. Всё растение густо опушено отстоящими фиолетово-красными волосками. Цветки крупные, беловато-розовые. Родина — Гималаи [10].

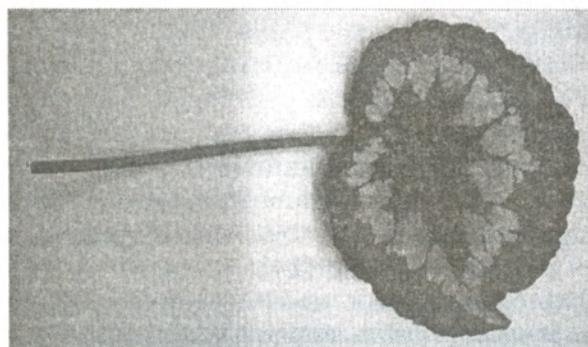


Рисунок 5 — Бегония Гриффита (*B. griffithii*)

Предметом нашего исследования является качественное и количественное содержание соединений фенольной природы в изучаемых видах растений.

Чтобы не уклониться от избранной темы, необходимо ясно и точно представить себе цель и задачи исследования. Их определение позволит ученику более экономно и с большей целеустремлённостью собирать материал и обрабатывать его.

Цель формулируется кратко и предельно точно: она выражает то, что намеревается сделать исследователь. Поэтому цель нашей работы — изучение содержания соединений фенольной природы в листьях различных видов бегоний.

Цель конкретизируется и развивается в задачах исследования. В задачах обозначают комплекс проблем, которые необходимо решить в ходе эксперимента. Решение задачи позволяет пройти определённый этап исследования. Формулировка задач тесно связана со структурой исследования, причём отдельные задачи могут быть поставлены как по теоретической (обзор литературы по проблеме), так и по экспериментальной части исследования.

Задачи определяют содержание исследования и структуру текста работы [1]. В связи с этим выделим основные задачи нашего исследования:

1. Изучить научную литературу, содержащую сведения о разнообразии БАВ, входящих в состав данных растений, в том числе и о фенольных соединениях.

2. Определить присутствие различных групп фенольных соединений в изучаемом растительном сырье с помощью качественных реакций.

3. Провести количественное определение соединений фенольной природы в листьях.

Методы, используемые в работе: наблюдения, химический, спектрофотометрический, статистический.

Все вещества, включённые в метаболизм растительного организма, условно делятся на первичные и вторичные метаболиты.

К процессам первичного метаболизма относятся дыхание, фотосинтез, синтез ДНК, РНК, белков, липидов. В результате синтезируются разнообразные химические соединения, зачастую весьма сложные по строению. Это так называемые первичные метаболиты, необходимые растениям как строительный и энергетический материал, они также выполняют регуляторную и защитную функции. Первичные метаболиты как исходное сырьё вовлекаются в сложный биосинтетический процесс, в результате которого возникают новые, существенно различающиеся по химической структуре и свойствам вещества — вторичные метаболиты. Как продукты синтеза живых организмов, каковыми являются растительные клетки, вторичные метаболиты способны оказывать определённое (позитивное или негативное) воздействие на многие жизненные процессы человека и животных [3].

Хорошо известны три самые большие группы вторичных метаболитов — алкалоиды, изопреноиды (терпены и терпеноиды) и фенольные соединения. Кроме этих основных групп, выделяют минорные классы растительных веществ вторичного происхождения. К ним относятся такие соединения, как непотеиногенные аминокислоты, серосодержащие гликозиды (глюкозинолаты), беталины, тиофены, а также специфические липиды (жирные кислоты, цианолипиды). Вторичные метаболиты выполняют защитную, регуляторную и аллелопатическую функции [4].

Соединения фенольной природы относятся к вторичным метаболитам растительного организма. Фенольными соединениями называются ароматические соединения, имеющие одну или несколько гидроксильных групп (оксигрупп), непосредственно связанных с бензольным ядром [5]. Эти соединения накапливаются как в вакуолях, так и в периплазматическом пространстве. При этом в вакуолях обычно содержатся гликозилированные фенольные соединения, тогда как в периплазматическом пространстве — метоксилированные соединения, или агликоны. Синтез фенольных соединений происходит в хлоропластах и цитозоле. Показано существование двух независимых путей синтеза ароматических соединений (шикиматные пути) — в цитозоле и в пластидах [6].

Группа фенольных веществ содержит разные по растворимости соединения: часть из них растворима в органических растворителях, другие водорастворимы, третьи являются нерастворимыми полимерами. Фенольные соединения играют активную роль в самых различных физиологических процессах — фотосинтезе, дыхании, росте, защитных реакциях растительного организма. Они выполняют механические и структурные функции (лигнин), а также являются аттрактантами (антоцианы) для насекомых-опылителей и животных — распространителей семян. Выявлено более 8000 фенольных соединений [7]. Фенольные соединения принято разделять на три большие подгруппы: с одним и двумя ароматическими кольцами, а также полимерные фенольные соединения. Иногда в особую группу выделяют димерные фенольные соединения [6].

Функции фенольных соединений многочисленны и разнообразны. Фенолы участвуют в окислительно-восстановительных реакциях, некоторые фенольные соединения являются переносчиками электронов и протонов в электрон-транспортной цепи (ЭТЦ) фотосинтеза и дыхания (пластохинон, убихинон), ряд фенолов оказывает влияние на ростовые процессы растений (иногда активизируя, но чаще ингибируя их). Соединения фенольной природы выполняют в растениях защитную функцию. Они во многом определяют фитоиммунитет. Многие фенолы являются антиоксидантами и защищают липиды мембран от окислительного разрушения. Некоторые из них используются в промышленности для

предохранения жиров от прогоркания. Очень важна роль фенольных соединений в процессе размножения растений. Данная функция связана не только с окраской цветков и плодов, но и с непосредственным участием фенолов в оплодотворении. Фенолы у некоторых растений могут выступать в качестве аллелопатических веществ. Некоторые фенолы действуют как активаторы или ингибиторы отдельных процессов и ферментов (синтез белка, деление клеток, окислительное фосфорилирование) [6; 8].

Для определения содержания соединений фенольной природы мы использовали качественные реакции на производные флавонона, фенолы, дубильные вещества, в том числе катехины. Комплексные соединения с 1–2%-ным спиртовым раствором хлористого алюминия имеют жёлтое или жёлто-зелёное окрашивание. Этой реакцией можно доказать наличие гидроксигруппы при третьем и пятом углеродном атоме. Флавоны и изофлавоны этой реакции не дают [14].

Борно-лимонная проба (реактив Вильсона). В присутствии борной и лимонной кислот обнаруживаются 5-гидроксифлавоны и 5-гидроксифлавонолы с образованием комплексов ярко-жёлтой окраски [14].

С 10%-ным раствором ацетата свинца флавоноиды образуют осадки от жёлтого до оранжево-красного цвета или интенсивно окрашенные лаки [14].

С солями железа(III) флавоноиды, имеющие два гидроксила в ортоположении в кольце В, дают зелёное окрашивание; если в кольце В три гидроксила в положениях 3', 4' и 5', то образуется чёрно-синее окрашивание [14].

Для обнаружения катехинов и лейкоантоцианидинов используют реакцию с 1%-ным раствором ванилина и концентрированной хлористоводородной кислотой. Образуется красное окрашивание [14].

Для обнаружения фенолов используется качественная реакция с хлоридом железа(III). Одноатомные фенолы дают устойчивое синефиолетовое окрашивание, что связано с образованием комплексных соединений железа [15].

Для обнаружения дубильных веществ используют следующие реактивы:

1. Раствор желатина. К 2–3 мл испытуемого раствора добавляют по каплям раствор желатина. Появляется муть, исчезающая при добавлении избытка желатина.

2. Бромная вода. К 2–3 мл испытуемого раствора прибавляют по каплям бромную воду (5 г брома в 1 л воды) до появления в растворе запаха брома. В случае присутствия конденсированных дубильных веществ образуется осадок [16].

В результате качественных реакций с помощью реакции комплексообразования с 1–2%-ным спиртовым раствором хлористого алюминия было установлено, что в листьях всех исследуемых видов растений, кроме *B. erythrophylla*, при третьем и пятом углеродном атоме ароматического кольца содержатся гидроксильные группы.

Борно-лимонная проба показала присутствие 5-гидроксифлавонов и 5-гидроксифлавонолов в листьях *B. metallica*, *B. manicata* и *B. griffithii*.

Наличие катехинов и антоцианов в листьях *B. boweri* и *B. griffithii* было показано реакцией с 1%-ным раствором ванилина и концентрированной хлороводородной кислотой.

Реакция с безводным хлоридом железа(III) доказала присутствие одноатомных фенолов в листьях *B. boweri*.

Отсутствие конденсированных дубильных веществ в листьях всех изучаемых представителей показала реакция с бромной водой, в то время как реакция с раствором желатина показала присутствие неконденсированных дубильных веществ в листьях всех изучаемых видов, кроме *B. metallica*.

Определение содержания суммарной фракции флавоноидов проводилось в два этапа: получение экстракта и количественное определение содержания флавоноидов спектрофотометрическим методом.

**Получение экстракта.** 0,25+0,02 г измельченного сухого сырья помещали в колбу вместимостью 100 мл, добавляли 10 мл 70%-ного этилового спирта. Колбу с содержимым соединяли с обратным холодильником и нагревали на кипящей водяной бане в течение 30 мин, затем охлаждали до комнатной температуры и отфильтровывали через вату в мерную колбу вместимостью 25 мл. Вату промывали небольшим количеством 70%-ного этанола и добавляли к полученному экстракту, после чего доводили общий объем экстракта до метки. Полученный экстракт можно использовать

для определения суммарной фракции фенолов и флавоноидов.

**Количественное определение суммарной фракции флавоноидов.** К 0,1 мл полученного экстракта прибавляли 0,4 мл раствора 2%-ного алюминия хлорида в этаноле, 1 каплю 30%-ной уксусной кислоты. Раствор доводили 96%-ным этиловым спиртом до 5 мл. В качестве контроля использовали следующий раствор: к 0,1 мл 70%-ного спирта добавляли 0,4 мл алюминия хлорида в этаноле и 1 каплю 30%-ной уксусной кислоты, доводили до 5 мл 96%-ным этанолом. Через час измеряли оптическую плотность полученного раствора на спектрофотометре при длине волны 410 нм [17]. При выполнении исследования мы использовали спектрофотометр «Specord-50» (Германия).

Содержание суммы флавоноидов в процентах (X) в пересчете на гликозиды кверцетина в абсолютно сухом сырье вычислили по следующей формуле:

$$X = \frac{A \cdot V_1 \cdot V_2 \cdot 100}{V_3 \cdot m \cdot (100 - W) \cdot E_{1\text{см}}^{1\%}}$$

где A — оптическая плотность исследуемого раствора;

$V_1$  — общий объем экстракта, мл;

$V_2$  — объем раствора для спектрофотометрирования, мл;

$V_3$  — объем экстракта, взятый для определения, мл;

$E_{1\text{см}}^{1\%}$  — удельный показатель поглощения

гликозидов кверцетина в комплексе с алюминия хлоридом в этаноле при длине волны 410 нм, равный 330;

$m$  — масса сырья в граммах;

$W$  — потеря в массе при высушивании сырья в процентах.

Потери массы при высушивании различных органов составляют для соцветий — 70–80 %; листьев — 55–90 %; корней и корневищ — 60–80 %. Сушка считается законченной при содержании в сырье 10–15 %-ной свободной (гигроскопической) влаги [17].

Результаты опыта мы занесли в таблицу 1 и график 1.

Таблица 1 — Определение содержания суммарной фракции флавоноидов [17]

Образец	Оптическая плотность, ед.	Содержание флавоноидов, мг/г
1. Бегония металлическая ( <i>B. metallica</i> )	0,0187	0,567 ± 0,028
2. Бегония краснолистная ( <i>B. erythrophylla</i> )	0,0116	0,683 ± 0,034
3. Бегония манжетная ( <i>B. manicata</i> )	0,0166	0,431 ± 0,013
4. Бегония Бауэра ( <i>B. boweri</i> )	0,0555	2,336 ± 0,117
5. Бегония Гриффита ( <i>B. griffithii</i> )	0,1096	2,657 ± 0,133

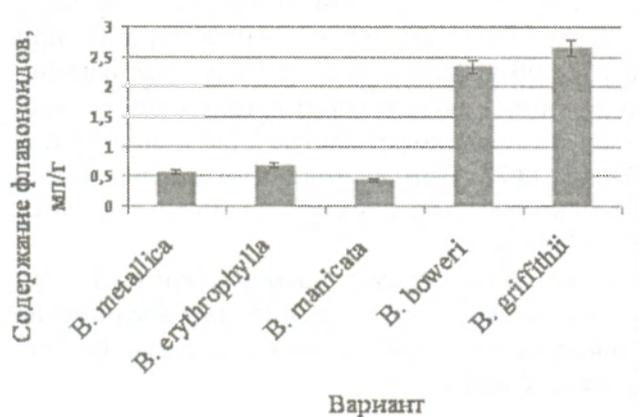


График 1 — Содержание флавоноидов в листьях различных представителей р. *Begonia*

Также был проведён анализ содержания антоцианов в изучаемых образцах. Содержание антоцианов определяли согласно методу, описанному в работе [18]. Навеску 0,05 г свежего растительного материала растирали в 0,5 мл 1%-ного HCl. Остаток в ступке ещё раз смывали 0,5 мл раствора. К экстракту добавляли 1 мл хлороформа и центрифугировали 10 мин при 3000 г при температуре 4 °C на центрифуге «Kubota» (Япония). Супернатант отбирали и измеряли его оптическую плотность при 525 нм на спектрофотометре «Specord-50» (Германия). Для расчёта использовали коэффициент молярной экстинкции 31,6 \* (M<sup>-1</sup>cm<sup>-1</sup>). Результаты представлены в таблице 2 и на графике 2.

Таблица 2 — Определение содержания антоцианов [17]

Образец	Оптическая плотность, ед.	Содержание антоцианов, %
1. Бегония металлическая ( <i>B. metallica</i> )	0,98665	1248,92 ± 62,44
2. Бегония краснолистная ( <i>B. erythrophylla</i> )	0,97765	1237,53 ± 61,88
3. Бегония манжетная ( <i>B. manicata</i> )	0,9198	1164,30 ± 58,21
4. Бегония Бауэра ( <i>B. boweri</i> )	0,97705	1236,77 ± 61,84
5. Бегония Гриффита ( <i>B. griffithii</i> )	0,9644	1220,76 ± 61,04

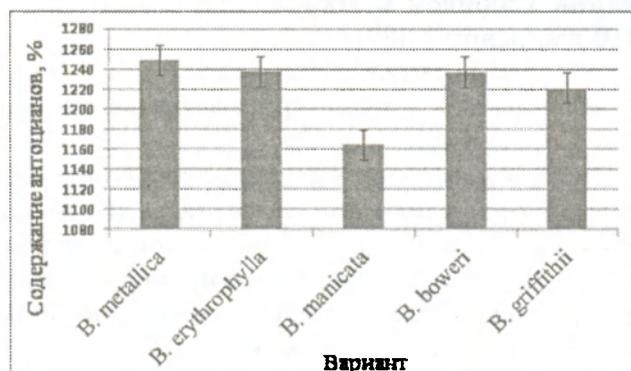


График 2 — Содержание антоцианов в листьях различных представителей р. *Begonia*

Таким образом, в ходе исследования получены следующие результаты:

1. В листьях всех исследуемых видов растений, кроме *B. erythrophylla*, при третьем и пятом углеродном атоме ароматического кольца содержатся гидроксильные группы.
2. Доказано присутствие 5-гидроксифлавонов и 5-гидроксифлавонолов в листьях *B. metallica*, *B. manicata* и *B. Griffithii*.
3. Показано присутствие катехинов и антоцианов в листьях *B. boweri* и *B. Griffithii*.
4. Было доказано присутствие одноатомных фенолов в листьях *B. Boweri*.

5. В листьях всех изучаемых представителей отсутствуют конденсированные дубильные вещества, в то время как в листьях всех видов, кроме *B. metallica*, содержатся неконденсированные дубильные вещества.

6. Наибольшее количество флавоноидов содержится в листьях *B. boweri* ( $2,336 \pm 0,117$  мл/г) и *B. griffithii* ( $2,657 \pm 0,133$  мл/г), наименьшее — в листьях *B. manicata* ( $0,431 \pm 0,012$  мл/г).

7. Наибольшее количество антоцианов содержится в листьях *B. metallica*

( $1248,924 \pm 62,446$  %), наименьшее — в листьях *B. manicata* ( $1164,30 \pm 58,21$  %).

Итак, предложенное исследование является удачной моделью для научно-исследовательской работы учащихся по дисциплинам естественно-научного профиля, так как здесь расширяются представления о многообразии растений и веществ растительного происхождения, оценивается множество показателей, которые ученикам было бы интересно выполнить и проанализировать.

#### Список использованных источников

1. Научно-исследовательская работа учащихся: понятия, этапы, формы [Электронный ресурс]. — Режим доступа : <http://festival.1september.ru/articles/524224/>. — Дата доступа : 25.04.2015.
2. О пользе бегонии [Электронный ресурс]. — Режим доступа : <http://www.liveinternet.ru/users/3486682/post164599550/>. — Дата доступа : 25.04.2015.
3. Биологически активные вещества лекарственных растений [Электронный ресурс]. — Режим доступа : [http://studopedia.ru/4\\_3295\\_biologicheski-aktivnie-veschestva-lekarstvennih-rasteniy.html](http://studopedia.ru/4_3295_biologicheski-aktivnie-veschestva-lekarstvennih-rasteniy.html). — Дата доступа : 25.04.2015.
4. Филиппова, Г. Г. Основы биохимии растений: курс лекций / Г. Г. Филиппова, И. И. Смолич. — Минск : БГУ, 2004. — 136 с.
5. Гребинский, С. О. Биохимия растений / С. О. Гребинский. — 2-е, доп. изд. — Львов : Вища школа, Изд-во при Львов. ун-те, 1975. — 279 с.
6. Алёхина, Н. Д. Физиология растений / Н. Д. Алёхина, Ю. В. Балнокин, В. Ф. Гавриленко; под ред. И. П. Ермакова. — М. : Изд. центр «Академия», 2007. — 634 с.
7. Медведев, С. С. Физиология растений: учеб. для биол. спец. вузов / С. С. Медведев. — СПб. : Изд-во С.-Петербур. ун-та, 2004. — 336 с.
8. Красильникова, Л. А. Биохимия растений / Л. А. Красильникова, О. А. Авксентьева, В. В. Жмурко, Ю. А. Садовниченко; под ред. Л. А. Красильниковой. — Ростов н/Д : Феникс, 2004. — 224 с.
9. Цветы и комнатные растения. — Минск : Харвест, 2004. — 315 с.
10. Комнатные растения: Справочник. — М. : Лесная промышленность, 1989.
11. Иллюстративный справочник Floral-city [Электронный ресурс]. — Режим доступа : <http://floral-city.ru/begonii-vidy-i-sorta-uxod-i-foto/312-begoniya-krasolistnaya.html>. — Дата доступа : 25.04.2015.
12. Комнатные цветы и декоративные растения [Электронный ресурс]. — Режим доступа : <http://karona.net/groups-of-houseplants/decorative-and-deciduous/487-begoniya-manzhethnaya.html>. — Дата доступа : 25.04.2015.
13. Комнатные цветы и декоративные растения [Электронный ресурс]. — Режим доступа : <http://karona.net/groups-of-houseplants/decorative-and-deciduous/481-begoniya-bauera.html>. — Дата доступа : 25.04.2015.
14. Качественные реакции на производные флавонона [Электронный ресурс]. — Режим доступа : <http://pharmacognoz.ru/biologicheski-aktivnyie-veschestva/flavonoidyi/kachestvennyie-reaktsii-na-proizvodnyie-fl.html>. — Дата доступа : 25.04.2015.
15. Кислородсодержащие соединения [Электронный ресурс]. — Режим доступа : [http://www.chemistry.ssu.samara.ru/chem4/link\\_v22.htm](http://www.chemistry.ssu.samara.ru/chem4/link_v22.htm). — Дата доступа : 25.04.2015.
16. Дубильные вещества, общая характеристика [Электронный ресурс]. — Режим доступа : <http://www.fito.nnov.ru/special/glycozides/dube/>. — Дата доступа : 25.04.2015.
17. Физиология растений. Практикум: пособие: в 2 ч. / Ж. Э. Мазец, С. В. Судейная, Е. Р. Грицкевич. — Минск : БГПУ, 2010. — Ч. 2. — 96 с.
18. Mabry, T. J. The systematic identification of flavonoids / T. J. Mabry, K. R. Markham, M. V. Thomas. — New York : Springer-Verlag, 1970. — P. 261–266.