

**ВСЕРОССИЙСКАЯ КОНФЕРЕНЦИЯ ОБУЧАЮЩИХСЯ
«МОЙ ВКЛАД В ВЕЛИЧИЕ РОССИИ»**

Направление работы: химия

Тема: «Фитохимический анализ состава растения Дельфиниум (Живокость)»

Автор: Крат Анна Сергеевна

Научный руководитель: Выскребенцева Светлана Вячеславовна

Место выполнения работы: МБОУ СОШ №1 имени Чернявского Якова Михайловича станицы Крыловской муниципального образования Крыловский район Краснодарского края

2023

Оглавление

Введение.....	3
Основная часть.....	4
1. Литературный обзор.....	4
1.1 Краткая ботаническая характеристика растения Дельфиниум.....	4
1.2 Химические вещества, входящие в состав дельфиниума, и их влияние на человека...	5
2. Практическая часть.....	6
2.1 Сбор и сушка растения Дельфиниум.....	6
2.2 Определение содержания золы в разных частях растения Дельфиниум.....	6
2.3 Качественное обнаружение алкалоидов в составе растения Дельфиниум.....	7
2.4 Качественное определение флавоноидов в растении Дельфиниум.....	8
2.4.1 Цианидиновая проба на флавоноиды.....	9
2.4.2 Взаимодействие флавоноидов с щелочью.....	10
2.4.3 Борно-лимонная реакция на флавоноиды.....	10
2.4.4 Взаимодействие флавоноидов с хлоридом железа (III).....	11
2.4.5 Взаимодействие флавоноидов со спиртовым раствором хлорида алюминия.....	11
2.5 Определение содержания флавоноидов методом УФ-спектрофотометрии.....	12
2.6 Определение содержания суммы дубильных веществ в пересчете на танин.....	13
Заключение.....	16
Список использованной литературы и интернет-источников.....	17
Приложение 1.....	18
Приложение 2.....	19
Приложение 3.....	20

Введение

Дельфиниум – это член семейства лютиковых, которое включает в себя около 400 однолетних, двухлетних и многолетних пород. Он хорошо приспособляется к внешним условиям и удивительно стоек.[1]

Существует легенда о том, как появилось это растение на планете. Когда-то в Древней Элладе жил необыкновенно одаренный скульптор. По памяти он изваял свою усопшую девушку и оживил ее, за что и постиг гнева богов. За такую дерзость древнегреческие боги превратили его в дельфина. Каждый вечер дельфин подплывал к берегу, чтобы увидеть свою возлюбленную, но так и не мог ее найти. И вот однажды, стоя на берегу и смотря в море, девушка увидела дельфина и помахала ему рукой. Когда дельфин подплыл к берегу, во рту он держал нежный цветок, который излучал лазоревый цвет. В память о своей любви дельфин выбросил к ногам девушки этот цветок, который мы сегодня называем дельфиниумом, и исчез навсегда. Возможно, такое название цветок получил, поскольку его форма напоминает спину дельфина. [2]

Эта легенда, попавшаяся мне на глаза летом в интернете, заставила по-новому взглянуть на растение, которое у нас в огороде растет как сорная трава. А когда бабушка (она медик по профессии) рассказала о его целебных свойствах, что он в виде различных настоек и мазей широко используется в медицине для лечения различных болезней человека, то мой интерес к изучению этого растения усилился многократно. И осенью я попросила учителя химии взять в качестве темы индивидуального проекта именно исследование этого удивительного цветка.

Цель работы: провести фитохимический анализ состава растения Дельфиниум.

Для достижения поставленной цели необходимо было решить ряд **задач**:

1. Изучить дополнительную литературу по выбранной теме о составе данного растения, методиках, позволяющих обнаружить вещества, входящих в состав растения.
2. Выбрать доступные для нашей школьной лаборатории методики по обнаружению химических веществ, входящих в состав дельфиниума.
3. Провести химический эксперимент по качественному и количественному определению веществ, входящих в состав растения Дельфиниум.
4. Проанализировать полученные данные и сделать выводы.

Объектом нашего исследования являются различные части растения Дельфиниум (листья, стебли и цветки), а **предметом** изучения – химические вещества, входящие в состав растения Дельфиниум.

Также мы выдвинули **гипотезу** о том, что цветки растения Дельфиниум могут содержать больше всего различных химических веществ, чем другие его части.

Методы исследования: литературный обзор, химический эксперимент, анализ полученных данных.

Основная часть

1. Литературный обзор

1.1 Краткая ботаническая характеристика растения Дельфиниум

Многолетнее травянистое растение, достигающее 80-200, порой 400 см высоты. Корневище короткое, многоглавое, от которого отходят многочисленные придаточные корни. Стебли одиночные или в числе нескольких, простые, обычно голые, равномерно облиственные. Листья очередные, до 16 см шириной. Листовая пластинка в очертании округлая, 3-7 пальчато-рассеченная, с продолговато-ромбическими, трехлопастными долями, при основании глубоко-сердцевидная, голая или по краям и жилкам покрыта волосками. Цветки обоеполые, зигоморфные (неправильные), собраны в негустую простую кисть. Чашелистики в числе 5, лепестковидные, синие, верхний из них при основании продолжен в полый длинный шпорец. Лепестки черные или темно-бурые, превращены в 2 нектарника и 2 стаминодия. По некоторым источникам лепестки тычиночного происхождения, т.е. образованы из стаминодиев, за счет которого произошло формирование двойного околоцветника. Тычинки многочисленные, пестики в числе 3. Формула цветка Живокости высокой - $\uparrow 45L2,2T\infty P3$. Плод – трехгранная листовка. Цветет в июле-августе, плоды созревают в августе-сентябре. [3]

Надцарство: Эукариоты

Царство: Растения

Отдел: Покрытосеменные, или Цветковые

Отряд: Лютиковые

Семейство: Лютиковые

Подсемейство: Лютиковые

Род: Живокость

Вид: Живокость высокая [4]

Существуют три основные разновидности дельфиниума.

Дельфиниум elatum – высокий дельфиниум. Самый высокий представитель – может вырастать до 3 метров. Стебли ворсистые, листва насыщенно-зелёная, похожа на пальцы по форме. Цветение кистеобразное, плотное, ярко-синие цветы.

Дельфиниум grandiflora – крупноцветковый. Однолетнее растение до 80 см в высоту, отличается пуховым стеблем с вертикальным разветвлением. Листья тройные, цветы группируются в крупные соцветия по виду кисти. Начинает цветение в середине лета. Цвет — синий или голубой.

Дельфиниум полевой. Однолетник высотой до 2 метров, начинает цветение в июле, оно продолжается до сентября. Цветки по типу пирамиды, могут быть махровыми или стандартными, цвета – голубой, сиреневый, белый, розовый. [5]

1.2 Химические вещества, входящие в состав дельфиниума, и их влияние на человека

Все части живокости высокой содержат ценные органические вещества. В тканях растения найдены около 40 видов алакалоидов, относящихся к производным изохинолина (дельфелин, кондельфин, элатин, делатин, метилликаконитин, эдоленин, курарин, тубокурарин, токсиферин, дельсемин, мелликтин, гликоалкалоид дельфинидин и др.): в корнях – до 4%, семенах – до 2,5%, траве – до 1,3%. Кроме того, надземная часть живокости содержит микроэлементы: калий, кальций, магний, железо, марганец, медь, цинк, кобальт, молибден, хром, алюминий, барий, селен, никель, стронций, свинец), концентрирует Sr, Mo, Sr, Se, а также флавоноиды и другие вещества. [3]

Все эти вещества оказывают благотворное влияние на организм человека.

Действие **флавоноидов**: капилляроукрепляющее, кардиотропное, диуретическое, желчегонное, гепатопротекторное, кровоостанавливающее, противовоспалительное.

Содержащиеся **антоцианы**, помогают в излечении следующих заболеваний: старение и неврологические болезни, бактериальные инфекции, злокачественные новообразования, сахарный диабет, воспалительные процессы.

Действие **кемпферола** (одного из главных флавоноидов растений): улучшает физические характеристики стенок кровеносных сосудов и капилляров, делая их более гибкими, активизирует очищение организма от токсинов, оказывает общеукрепляющий, противовоспалительный и тонизирующий эффект, обладает мочегонным действием.

Свойства **дубильных веществ**: вяжущее, детоксикационное, противодиарейное, кровоостанавливающее, противогеморроидальное.

Золы обладают следующими полезными свойствами: противовоспалительное, антисептическое, дезинфицирующее, заживляющее.

Также золы тормозят процесс свёртывания крови, разрушают сосудистые тромбы - что уже используется в терапии тромбозов артерий и вен.

Алкалоиды обладают следующими свойствами: обезболивающее, кровоостанавливающее, антибактериальное, успокоительное.

А целый букет микроэлемент оказывает нормализуют функции и работу всех органов и систем органов нашего организма, участвуют в метаболизме других веществ и поддерживают активность организма в целом. [6]

2. Практическая часть

2.1 Сбор и сушка растения Дельфиниум

Летом в июле месяце в конце огорода зацвел дельфиниум (или живокость). Очень красивое растение, но растет как сорная трава (приложение 1, рис.1,2). Мама попросила его выдернуть, чтобы не созрели плоды и семена не разнесло ветром на еще большее расстояние. Часть растений я вырвала с корнями, очистила от земли и подвесила для сушки под навесом во дворе дома, чтобы лучи солнца не попадали на них (приложение 1, рис 3). После полного высыхания я по отдельности собрала сухие листья, цветки и стебли. Все части, как могла, руками измельчила (приложение 1, рис.4). Осенью в школе с этими образцами проделали все дальнейшие опыты, описанные ниже в моей работе.

2.2 Определение содержания золы в разных частях растения Дельфиниум

Зола общая – это несгораемый остаток неорганических веществ, получающихся после сжигания и прокаливания остатка до постоянной массы при температуре около 550-650 С.°

Зола растений (общая зола) состоит из смеси различных неорганических веществ, находящихся в самом растении (свойственных растению), в форме оксидов элементов: К, Na, Mg, Ca, Fe, Si, реже и в меньшем количестве Cu, Mn, Al и др., а также минеральных примесей (земля, песок, камешки, пыль), которые могут попасть в сырье при сборе и сушке. [7]

Материалы и оборудование:

1. Растения: хорошо высушенные на воздухе ткани и органы растений – измельченные стебли, листья и цветки дельфиниума.
2. Фарфоровые тигли, прокаленные и охлажденные в эксикаторе.
3. Тигельные щипцы, спиртовка, штатив с кольцом, фарфоровый треугольник, ступка, весы электронные, муфельная печь, эксикатор, скальпель, препаровальные иглы (2 шт.), этанол, глянцева бумага, спички, рукавицы или полотенце.

Ход работы:

Материал измельчают, растирают в ступке, помещают в предварительно прокаленный и взвешенный тигель. Навеска должна составлять 0,5-1 г. Открытый тигель помещают на фарфоровый треугольник, закрепленный в штативе, добавляют 1-2 мл спирта и поджигают. После прекращения горения процедуру со спиртом повторяют еще раз. Заканчивают озоление в муфельной печи.

Тигли выставляют на металлическую полочку муфельной печи и проверяют полноту сжигания, о которой судят по отсутствию в золе несгоревших частей и угля. Перемешивают золу двумя тонкими препаровальными иглами или кусочками проволоки. Если после продолжительного прокаливания не произошло полного сгорания (остаются кусочки спекшегося

угла), тигель следует охладить, добавить в него несколько капель спирта, содержимое перемешать препаровальными иглами и повторно прокалить при высокой температуре в муфельной печи.

После того как озоление закончено, тигли переносят в эксикатор. При полном охлаждении их взвешивают и определяют количество золы, содержащейся в исследуемом материале. [8]

После взвешивания каждого образца мы **результаты** занесли в таблицу 1:

Таблица 1. Определение содержания золы в разных частях растения Дельфиниум

Орган растения	Масса пустого тигля	Масса тигля с материалом	Масса материала, m_1	Масса тигля с золой	Масса золы, m_2	Содержание золы $m_2/m_1 * 100\%$
Стебли Дельфиниума	24,64 г	25,64 г	1 г	24,7 г	0,06 г	6%
Листья Дельфиниума	23,14 г	24,14 г	1 г	23,27 г	0,13 г	13%
Цветки Дельфиниума	23,58 г	24,58 г	1 г	23,61 г	0,03 г	3%

Фотографии по озолению представлены в приложении 1 на рисунках 5-6.

Вывод: Больше всего золы оказалось в листьях дельфиниума, значит, и минеральных веществ больше всего именно здесь. Меньше всего минеральных веществ в цветках растения.

2.3 Качественное обнаружение алкалоидов в составе растения Дельфиниум

Для обнаружения алкалоидов в растительном сырье чаще всего проводят общие цветные реакции (реакции осаждения алкалоидов). Эти реакции основаны на способности алкалоидов образовывать нерастворимые в воде соединения с солями тяжелых металлов, с комплексными йодидами, комплексными кислотами и другими соединениями кислотного характера. Данные цветные реакции позволяют установить наличие алкалоидов даже при незначительном их содержании. Реакции проводят с неочищенным извлечением из ЛРС. Обязательным условием является кислая среда (в щелочной среде осадки не образуются или же образуются за счет разрушения реактивов). [9]

Материалы и оборудование:

Сухие части растения Дельфиниум массой 1 г, 1%-ный раствор соляной кислоты, йод массой 1 г, 4%-ный раствор йодида калия KI, вода дистиллированная.

Колбы на 50 мл, водяная баня с электроплиткой, воздушный холодильник, химическая воронка, фильтровальная бумага, пипетки, предметные стекла, стеклянные палочки.

Ход работы:

Навеску сырья (1г) переносят в коническую колбу вместимостью 50 мл, заливают 25 мл 1%-ым раствором соляной кислоты и кипятят с обратным холодильником на водной бане в

течение 30 минут (приложение 2, рис. 7). Далее дают остыть и фильтруют в другие чистые колбы с помощью химической воронки и фильтровальной бумаги. Затем проводят реакцию Бушарда:

алкалоид + реактив (KI_3) — бурый осадок комплексного йодида алкалоида.

Для приготовления реактива Бушарда 1 г кристаллического I_2 растворяют в 50 мл 4 % KI . Но реакцию нужно проводить с минимальным количеством реактивов (!), избыток их приводит к растворению осадка [9].

Поэтому мы использовали следующую методику проведения данного опыта:

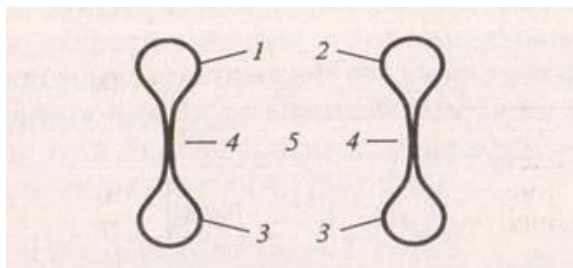


Рис.1 Техника выполнения опыта

На разные концы предметного стекла (№5 на рисунке) помещают по капле необходимого реактива (№1 и №2 на рисунке) на вещество, которое хотят выявить. Рядом с одной из них наносят каплю экстракта растения, содержащего данное вещество (№3 слева), а с другой – каплю воды (№3 справа). Чистой стеклянной палочкой с заостренным концом две соседние капли соединяют перемычками (№4 слева и справа). В результате взаимодействия растворов образуются продукты реакции [9].

В результате проведенных реакций на предметных стеклах (приложение 2, рисунки 8 и 9) мы наблюдали появление бурой мути во всех трех образцах. Более выраженная муть была в экстракте стеблей.

Вывод: Алкалоиды присутствуют в достаточном для обнаружении количестве во всех частях растения Дельфиниум, но больше всего их оказалось в стеблях растения.

2.4 Качественное определение флавоноидов в растении Дельфиниум

Флавоноиды — крупнейший класс растительных полифенолов. С химической точки зрения, флавоноиды представляют собой:

- гидроксипроизводные флавона (флавоноиды),
- 2,3-дигидрофлавона (флаваноны),
- изофлавона (изофлавоноиды),
- 4-фенилкумарина (неофлавоноиды),
- флавоны с восстановленной карбонильной группой (флаванолы),
- соединения С6-С3-С6 ряда, в которых имеются два бензольных ядра, соединённых друг с другом трёхуглеродным фрагментом (халконы, дигидрохалконы и ауруны).

Флавоноиды играют важную роль в растительном метаболизме и очень широко распространены в высших растениях. [10]

2.4.1 Цианидиновая проба на флавоноиды

Материалы и оборудование:

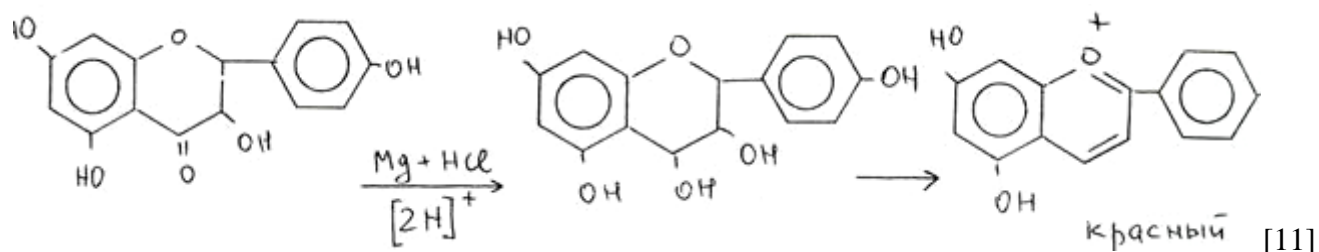
Сухие части растения Дельфиниум массой 1 г, 70% этиловый спирт, соляная кислота концентрированная, порошок магния или цинка.

Колбы на 50 мл, обратный холодильник, водяная баня, штатив, пробирки.

Ход работы:

Навеску сырья (1г) переносят в коническую колбу вместимостью 50 мл, заливают 25 мл 70% спирта этилового и кипятят с обратным холодильником на водной бане в течение 30 мин.

К 2 мл полученного извлечения добавляют несколько капель кислоты хлористоводородной концентрированной и 20 мг порошка магния или цинк. В результате наблюдается появление розового окрашивания, что свидетельствует о наличии флавоноидов.



Выделяющийся водород действует на молекулу флавоноидов с образованием оксониевого соединения, имеющего окраску от оранжевой (флавоны) до красно-фиолетовой (флавонолы, флаваноны, флаванололы). Халконы, ауруны и изофлавоны не дают окрашивания в цианидиновой реакции, но при добавлении концентрированной HCl без Mg дают красное окрашивание за счет образования оксониевых солей. [12]

Результат проделанных реакций занесли в таблицу 2:

Таблица 2. Определение флавоноидов цианидиновой пробой

Части растения	Окрашивание при проведении цианидиновой пробы	Предположительная разновидность флавоноидов
дельфиниум		
Стебли	Желто-оранжевое окрашивание	Флавоны
Листья	Розово-красное окрашивание	Флавонолы, флавононы
Цветки	Ярко красное окрашивание при добавлении HCl (конц.) без Mg	Халконы, ауруны и изофлавоны

Появление окрашивания можно увидеть на рисунке 10 в приложении 2.

Вывод: Цианидиновую пробу дали образцы экстрактов, полученных из стеблей и листьев растения дельфиниум. Разная окраска говорит о присутствии разных видов флавоноидов.

Изменения в окрашивании произошли и в экстракте из цветков без добавления магния, что так же свидетельствует о наличие флавоноидов, но другой их разновидности.

2.4.2 Взаимодействие флавоноидов с щелочью

Материалы и оборудование:

Спиртовые извлечения из предыдущего опыта, 5%-ый раствор гидроксида натрия, пробирки, штатив для пробирок, пипетки.

Ход работы:

При добавлении к спиртовому извлечению флавоноидов нескольких капель раствора гидроксида натрия или калия наблюдается желтое окрашивание — его дают флавоны, флавонолы, флаваноны, оранжево-красное и пурпурное — ауроны, халконы, синее — антоцианы. [12] В пробирки прилить по 1 мл спиртовых извлечений и добавить по каплям раствор гидроксида натрия.

Результат проделанных реакций занесли в таблицу 3:

Таблица 3. Определение флавоноидов реакцией с щелочью

Части растения дельфиниум	Окрашивание растворов	Предположительная разновидность флавоноидов
Стебли	Желтое окрашивание	Флавоны, флавонолы, флавононы
Листья	Оранжевое окрашивание	Ауроны, халконы
Цветки	Сине-зеленое окрашивание	Антоцианы

Появление окрашивания можно увидеть на рисунке 11 в приложении 2.

Вывод: Реакцию с щелочью дали все образцы спиртовых извлечений. Разная окраска растворов говорит о присутствии разных групп флавоноидов.

2.4.3 Борно-лимонная реакция на флавоноиды

Материалы и оборудование:

Спиртовые извлечения из опыта 2.4.1, 5%-ые растворы борной и лимонной кислот, пробирки, штатив для пробирок, пипетки.

Ход работы:

Для выявления флавоноидов часто используют борно-лимонную реакцию (или реакцию Вильсона — Таубека): 5-оксифлавоны и 5-оксифлавонолы с борной кислотой в присутствии лимонной кислоты дают желтую окраску. [12] В пробирки прилить по 1 мл спиртовых извлечений и добавить по каплям раствор из смеси борной и лимонной кислот.

Результат проделанных реакций занесли в таблицу 4.

Появление окрашивания можно увидеть на рисунке 12 в приложении 2.

Таблица 4. Определение флавоноидов борно-лимонной реакцией

Части растения дельфиниум	Окрашивание растворов	Предположительная разновидность флавоноидов
Стебли	Желтое окрашивание	5-оксифлавоны и 5-оксифлавонолы
Листья	Желтое окрашивание	5-оксифлавоны и 5-оксифлавонолы
Цветки	Красно-бордовое окрашивание	Сведений не найдено

Вывод: Реакцию с борно-лимонной смесью дали все образцы спиртовых извлечений. В стеблях и листьях находятся одинаковые или близкие по строению флавоноиды. А вот отличная от методики окраска в экстракте цветков дельфиниума говорит, скорее всего, о присутствии других групп флавоноидов. К сожалению, в дополнительных источниках информации мы не нашли, какие именно виды флавоноидов могут давать такую красно-бордовую окраску.

2.4.4 Взаимодействие флавоноидов с хлоридом железа (III)

Материалы и оборудование:

Спиртовые извлечения из опыта 2.4.1, 5%-ый раствор хлорида железа (III) FeCl_3 , пробирки, штатив для пробирок, пипетки.

Ход работы:

Флавоноиды, как и все фенольные соединения, взаимодействуют с ионами Fe^{3+} с образованием комплексов, окрашенных главным образом в сине-черный и зелено-черный цвета. [12] В пробирки прилить по 1 мл спиртовых извлечений и добавить по каплям 5%-ный раствор хлорида железа (III) FeCl_3 .

В результате проделанных реакций наблюдали появление сине-черного окрашивания в пробирках с экстрактами листьев и цветков и зелено-черного окрашивания в пробирке с экстрактом стеблей. Появление окрашивания можно увидеть на рисунке 13 в приложении 2.

Вывод: Реакцию с раствором хлорида железа (III) FeCl_3 дали все образцы спиртовых извлечений. Судя по одинаковой окраске, в листьях и цветках находятся близкие по строению флавоноиды, а в стеблях – другие их разновидности.

2.4.5 Взаимодействие флавоноидов со спиртовым раствором хлорида алюминия

Материалы и оборудование:

Спиртовые извлечения из опыта 2.4.1, 2%-ый спиртовой раствор хлорида алюминия AlCl_3 , пробирки, штатив для пробирок, пипетки.

Ход работы:

При добавлении к спиртовому извлечению флавоноидов 2—3 каплей 2% спиртового раствора хлорида алюминия (или циркония) наблюдается реакция комплексообразования и появление желтого окрашивания с яркой зеленой флуоресценцией в УФ-лучах. [12]

В пробирки прилить по 1 мл спиртовых извлечений и добавить по 2-3 капли спиртового раствора хлорида алюминия.

В **результате** наблюдали появление желтого окрашивания в пробирках с экстрактами листьев и стеблей, а в пробирке с извлечением цветков появилось синее окрашивание (приложение 3, рис.14). Полученные комплексные соединения с ионами алюминия мы использовали в количественном определении флавоноидов методом УФ-спектрофотометрии и флуориметрии, о котором расскажем в следующем пункте.

Вывод: Реакцию со спиртовым раствором хлорида алюминия дали все образцы извлечений. Отличная от методики окраска в экстракте цветков дельфиниума говорит, скорее всего, о присутствии других групп флавоноидов.

2.5 Определение содержания флавоноидов методом УФ-спектрофотометрии

УФ-спектрофотометрия и флуориметрия — методы, основанные на способности флавоноидов поглощать свет в УФ-области спектра и флуоресцировать.

Мы использовали окрашенные комплексы флавоноидов с ионами алюминия, полученные в опыте 2.4.5.

Определение содержания флавоноидов мы проводили с помощью беспроводного спектрометра PASCO PS-2500 и идущего с ним в комплекте планшетного регистратора SPARK LXi Datalogger (приложение 3, рис.15).

Кюветы заполняли растворами комплексных соединений флавоноидов и ионов алюминия согласно инструкции (правда, ее пришлось переводить с английского языка). По очереди проводили замеры каждого образца при длине волны 500 нм и получали соответствующие графики на экране планшета:

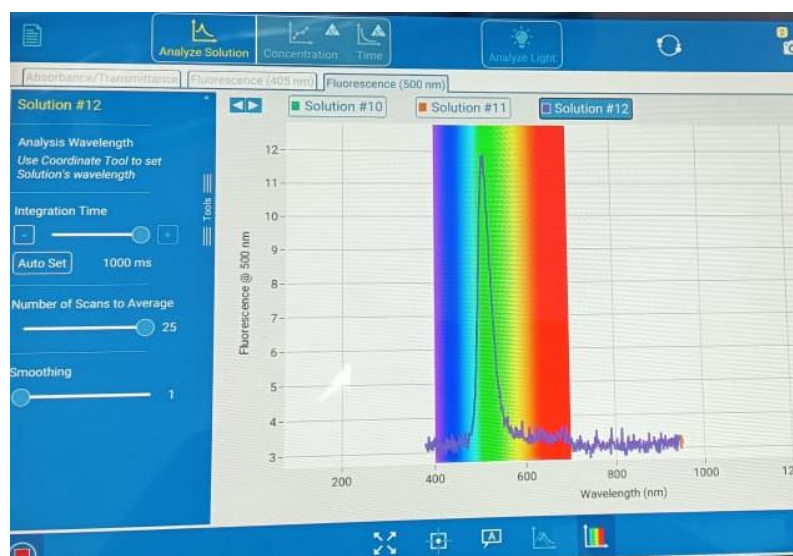


Диаграмма 1. Флуоресценция образца экстракта листьев с хлоридом алюминия

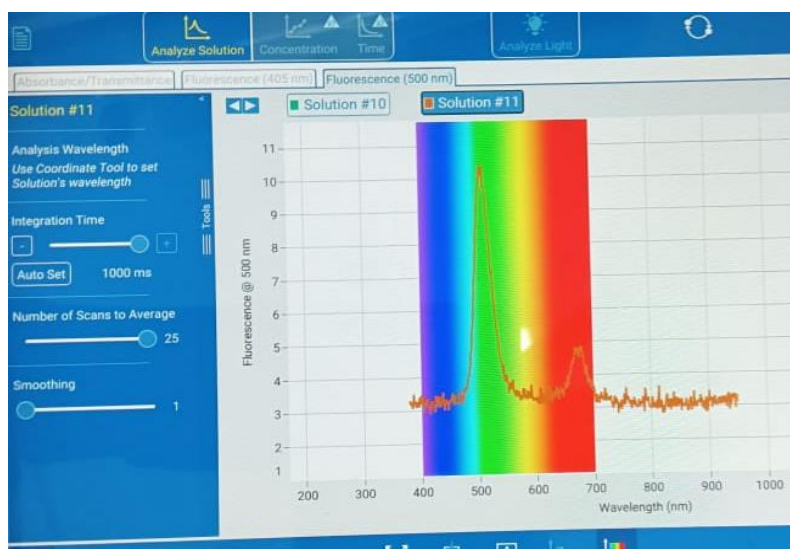


Диаграмма 2. Флуоресценция образца экстракта стеблей с хлоридом алюминия

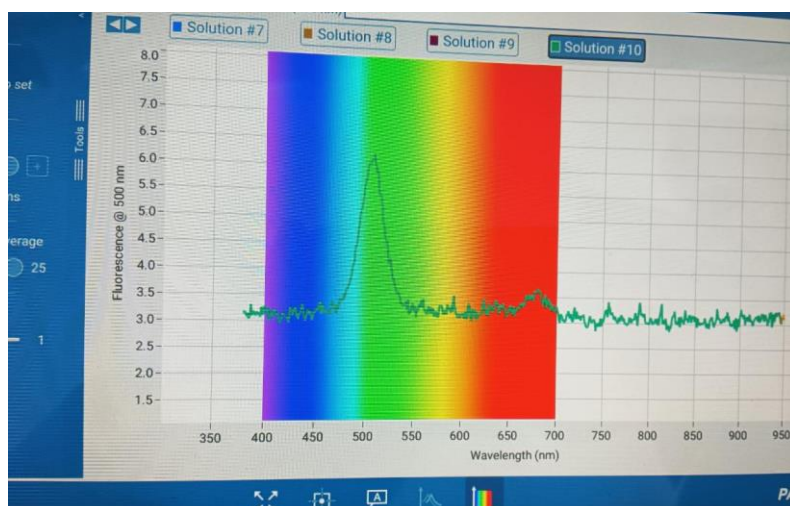


Диаграмма 3. Флуоресценция образца экстракта цветков с хлоридом алюминия

Результат: В УФ-лучах все образцы с комплексами флавоноидов и ионов алюминия как желтого цвета, так и синего (в экстракте цветков) дали характерную ярко зеленую флуоресценцию согласно методике (на всех диаграммах пик графика приходится на зеленый спектр).

Вывод: Содержание флавоноидов в различных частях растения Дельфиниум неодинаково. Судя по диаграммам, наибольшее количество флавоноидов в листьях. Почти в два раза меньше этих веществ содержится в цветках растения.

2.6 Определение содержания суммы дубильных веществ в пересчете на танин

Дубильные вещества — группа растительных полифенолов, способных "дубить" невыделанную шкуру, превращая ее в кожу. Эта способность дубильных веществ основана на их взаимодействии с белком кожи — коллагеном, приводящим к образованию структур, устойчивых к процессам гниения. Эти вещества в основном представлены полимерами катехинов (флаванола-3) или лейкоцианидинов (фла-вандиола-3,4) или сополимерами этих двух типов флавоноидных соединений.

Дубильные вещества накапливаются в разных частях растений. Чаще всего они содержатся в коре ствола, затем в коре корней и корневищ, в стеблях и листьях (у травянистых растений), а также в оболочке плодов. [13]

Материалы и оборудование:

Сухие стебли, листья и цветки дельфиниума, измельченные в ступке и просеянные через сито; вода, индикатор индигокармин, концентрированный раствор серной кислоты, 0,02 М раствор перманганата калия.

Конические колбы на 250 мл, 500 мл и 1000 мл, обратный холодильник, электрическая плитка с водяной баней, фильтровальная бумага или вата, химические воронки, бюретка, штатив.

Ход работы:

Около 2 г (точная навеска) измельченного растительного сырья, просеянного сквозь сито с отверстиями размером 3 мм, помещают в коническую колбу вместимостью 500 мл, заливают 250 мл нагретой до кипения воды и кипятят с обратным холодильником на электрической плитке с закрытой спиралью в течение 30 мин при периодическом перемешивании. Полученное извлечение охлаждают до комнатной температуры и фильтруют через вату в мерную колбу вместимостью 250 мл так, чтобы частицы сырья/препарата не попали в колбу, доводят объем раствора водой до метки и перемешивают.

25,0 мл полученного водного извлечения помещают в коническую колбу вместимостью 1000 мл, прибавляют 500 мл воды, 25 мл раствора индигосульфокислоты и титруют при постоянном перемешивании калия перманганата раствором 0,02 М до золотисто-желтого окрашивания.

Раствор индигосульфокислоты готовят следующим образом: 1 г индигокармина растворяют в 25 мл серной кислоты концентрированной, затем прибавляют дополнительно 25 мл серной кислоты концентрированной и разбавляют водой до 1000 мл, осторожно вливая полученный раствор в воду, в мерной колбе вместимостью 1000 мл, перемешивают.

Параллельно проводят контрольный опыт: в коническую колбу вместимостью 1000 мл помещают 525 мл воды, 25 мл раствора индигосульфокислоты и титруют при постоянном перемешивании калия перманганата раствором 0,02 М до золотисто-желтого окрашивания.

1 мл калия перманганата раствора 0,02 М соответствует 0,004157 г дубильных веществ в пересчете на танин.

Содержание суммы дубильных веществ в пересчете на танин в абсолютно сухом сырье в процентах (X) вычисляют по формуле:

$$X = \frac{(V - V_1) \cdot 0,004157 \cdot 250 \cdot 100 \cdot 100}{a \cdot 25 \cdot (100 - W)}, \text{ где}$$

V – объем калия перманганата раствора 0,02 М, израсходованного на титрование водного извлечения, мл;

V_I — объем калия перманганата раствора 0,02 М, израсходованного на титрование в контрольном опыте, мл;

0,004157 – количество дубильных веществ, соответствующее 1 мл калия перманганата раствора 0,02 М (в пересчете на танин), г;

a – навеска сырья или лекарственного растительного препарата, г;

W – влажность лекарственного растительного сырья или лекарственного растительного препарата, %;

250 – общий объем водного извлечения, мл;

25 – объем водного извлечения, взятого для титрования, мл. [14]

Если расчет сделать на 2 г навески и исключить влажность, то формула для расчета содержания суммы дубильных веществ в пересчете на танин будет выглядеть достаточно просто:

$$X = (V - V_I) \times 2,0785, \%$$

С каждым образцом мы проводили по 3 титрования, чтобы избежать погрешностей. В формулу подставляли среднее значение объемов перманганата калия. Результаты занесли в таблицу 5:

Изменения цвета индикатора с синего на золотисто-желтый можно увидеть на рисунках 16 и 17 в приложении 3.

Таблица 5. Количественное определение суммы дубильных веществ в пересчете на танин

№	Части растения Дельфиниум	Объем V(мл) раствора КМnO ₄ , пошедший на титрование			V _{ср} (мл) КМnO ₄	X (%) - содержание суммы дубильных веществ
		1	2	3		
1.	Листья	3,7	3,6	3,8	3,7	1,04 %
2.	Стебли	4,6	4,8	4,7	4,7	3,12 %
3.	Цветки	5,1	5,0	5,0	5,0	3,74 %
4.	Контрольная проба	3,2	3,2	3,2	3,2	0

Вывод: Наибольшее количество дубильных веществ в пересчете на танин содержится в цветках растения Дельфиниум, меньше всего их в листьях.

Заключение

Наша гипотеза о том, что в цветках растения Дельфиниум содержится больше всего различных органических веществ, чем в других его частях, подтвердилась частично. С помощью метода титрования мы определили, что дубильных веществ (полифенолов) действительно больше всего в цветках этого растения. А вот методом УФ-спектрофотометрии и флуориметрии мы определили, что флавоноидов, дающих реакцию со спиртовым раствором хлорида алюминия, в цветках наоборот намного меньше, чем в остальных частях растения. Да и золы получилось в разы меньше именно от цветков, значит, и минеральных веществ в этой части растения тоже меньше всего.

Также в ходе выполнения исследовательской работы поставленная цель была достигнута и решены все задачи:

1. Изучена дополнительная литература по данной теме и выбраны доступные для школьной лаборатории методики для проведения химического эксперимента;
2. Проведен фитохимический анализ (качественное и количественное определение) состава растения Дельфиниум;
3. Проанализирована вся полученная информация.

На основе полученных данных можно сделать следующие **выводы**:

- 1) Собрать и высушить растительное сырье для фитохимического анализа вполне под силу даже начинающему исследователю.
- 2) Дельфиниум – удивительное растение, не заслужено считающееся сорной травой. Содержит огромное количество полезных для человека химических веществ.
- 3) Минеральных веществ больше всего накапливается в листьях этого растения.
- 4) Алкалоиды присутствуют во всех частях растения, но больше всего их в стеблях дельфиниума.
- 5) Флавоноиды также присутствуют во всех частях дельфиниума, при чем разные группы этих органических веществ накапливаются в разных частях этого растения. Существует множество качественных реакций, с помощью которых можно обнаружить эти вещества в составе растительного сырья. Флавоноиды, дающие комплексные соединения с хлоридом алюминия, в большем количестве содержатся в листьях дельфиниума, чем в стеблях и цветках растения.
- 6) Дубильные вещества можно количественно определить доступным методом титрования. Больше всего этой группы органических соединений находится в цветках растения.

Данная работа оказалась для меня не только очень интересной, но и полезной. Я научилась методу титрования, который в школьной программе химии не изучается, а вот на Всероссийской олимпиаде школьников по химии в региональном туре встречается. В этом году я стала участником этого тура и без особых проблем справилась с практической его частью.

Список использованной литературы и интернет-источников

1. «Факты из истории дельфиниума»/ <https://zelleto.ru/2015/07/15/fakty-iz-istorii-delfiniuma.html>
2. «Дельфиниум» / <https://miffflow.ru/delfinium.html>
3. «Живокость высокая (Delphinium elatum L.)» / <https://lektrava.ru/encyclopedia/zhivokost-vysokaya/>
4. «Delphinium (Живокость, дельфиниум)» / <https://zooclub.ru/tree/delphinium>
5. «Виды и сорта дельфиниума» / <https://stroy-podskazka.ru/delfinium/vidy-i-sorta/>
6. «Дельфиниум (живокость): свойства, применение, противопоказания, рецепты, вопросы и ответы» / <https://www.tiensmed.ru/news/jivokosti-z2o.html>
7. Общая зола / <https://studfile.net/preview/5017067/page:4/>
8. Опыт 1 Определение содержания золы в разных частях растения - Студопедия / https://studopedia.ru/9_25044_opit--opredelenie-soderzhaniya-zoli-v-raznih-chastyah-rasteniy.html
9. Алкалоиды. Структура, свойства, качественные реакции / <https://farmf.ru/lekcii/alkaloidy-struktura-svoystva-kachestvennye-reaktsii/>
10. Корулькин, д.ю. Природные флавоноиды / Д.Ю. Корулькин, Ж.А. Абилов, Р.А. Музычкина, Г.А. Толстиков; Рос. акад. наук, Сиб. отд., Новосиб. ин-т органической химии. - Новосибирск: Академическое изд-во "Гео", 2007. - 232 с. - ISBN 978-5-9747-0119-1 (в пер.).
11. Качественное определение кемпферола / https://studopedia.net/14_61138_kachestvennoe-opredelenie-kempferol.html
12. О флавоноидах и их качественных реакциях / <https://farmf.ru/lekcii/flavonoidy-struktura-svoystva-kachestvennye-reaktsii/>
13. Флавоноиды, классификация, распространение в растительном мире, использование в медицине / <https://studfile.net/preview/9571401/page:13/>
14. Количественное определение дубильных веществ <https://pharmacopoeia.ru/ofs-1-5-3-0008-15-opredelenie-soderzhaniya-dubilnyh-veshhestv-v-lekarstvennom-rastitelnom-syre-i-lekarstvennyh-rastitelnyh-preparatah/>

Подготовительная работа с растением Дельфиниум и озоление его частей



Рис.1 Заросший конец огорода



Рис.2 Дельфиниум вблизи



Рис.3 Сушка под навесом



Рис.4 Готовые измельченные части растения



Рис 5. Тигель с материалом



Рис.6 Тигель с золой

Опыты по качественному определению флавоноидов в растении Дельфиниум



Рис. 7 Получение экстрактов

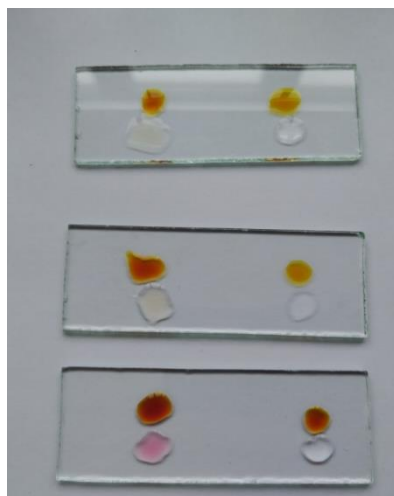


Рис.8

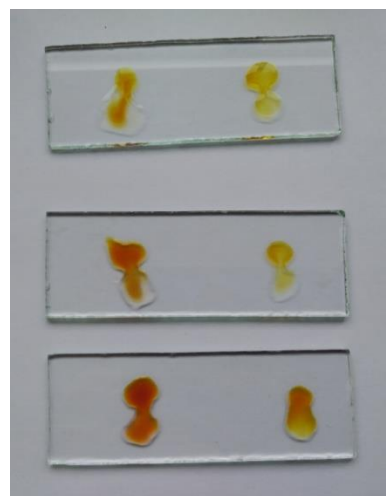


Рис.9

Обнаружение алкалоидов до смешивания (рис.8) и после (рис.9)



Рис.10 Цианидиновая проба



Рис.11 Реакция флавоноидов с щелочью



Рис.12 Борно-лимонная реакция на флавоноиды

Рис.13 Реакция флавоноидов с FeCl₃

Опыты по количественному определению веществ в растении Дельфиниум

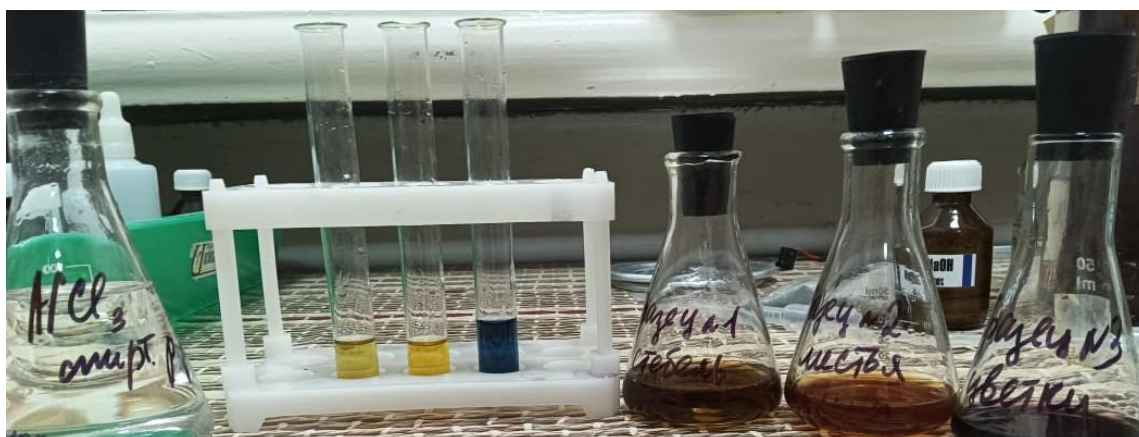


Рис.14 Реакция флавоноидов со спиртовым раствором хлорида алюминия

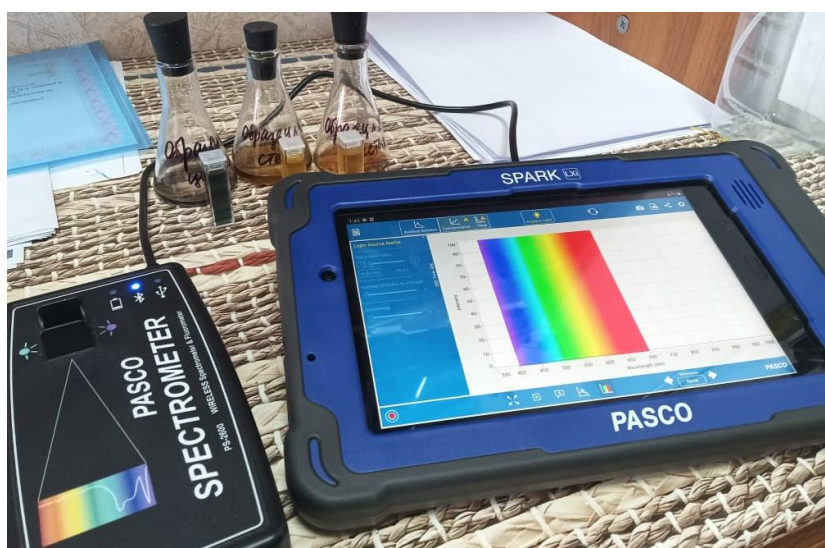


Рис.15 Спектрометр PASCO перед началом опытов



Рис. 16



Рис.17

Определение дубильных веществ до титрования (рис.16) и после титрования (рис.17)