

Определение содержания аскорбиновой кислоты в листьях березы повислой (*Betula pendula* Roth.) методом йодометрического титрования как способ оценки уровня загрязнения окружающей среды

Управление образования администрации г. Белгорода  
Муниципальное бюджетное общеобразовательное учреждение  
«Средняя общеобразовательная школа № 4» г. Белгорода

Исследовательская работа

**«Определение содержания аскорбиновой  
кислоты в листьях березы повислой (*Betula  
pendula* Roth.) йодометрическим титрованием  
как метод оценки уровня загрязнения  
окружающей среды»**

Выполнила:

Шевцова Анна Витальевна,

учащаяся 11 класса «А»

МБОУ СОШ № 4 г. Белгород

Руководитель:

Князева Наталья Викторовна,

учитель биологии

МБОУ СОШ № 4 г. Белгорода

Белгород, 2021 год

## Содержание

Введение.....	2
1. Теоретическая часть.....	5
1.1. Понятийный аппарат, используемый в проекте.....	5
1.2. Аскорбиновая кислота-важный компонент антиоксидантной системы растений.....	6
1.3. Йодометрическое титрование - один из методов определения содержания аскорбиновой кислоты .....	7
1.4. Береза повислая как вид-биоиндикатор.....	8
1.5. Оценка состояния окружающей среды методом определения показателя флуктуирующей асимметрии (ФА).....	9
2. Практическая часть .....	10
2.1. Сбор материала .....	10
2.2. Анализ содержания аскорбиновой кислоты методом йодометрического титрования.....	10
2.2.1. Лабораторное оборудование и реактивы.....	10
2.2.2. Правила титрования.....	11
2.2.3. Приготовление реактивов.....	12
2.2.4. Приготовление вытяжки.....	13
2.2.5. Титрование.....	13
2.2.6. Расчет содержания аскорбиновой кислоты.....	13
2.3. Статистическая обработка результатов.....	14
2.4. Результаты и обсуждение .....	16
2.5. Заключение и выводы .....	18
Библиография.....	20
Приложения	

## Введение

5 января 2021 года президент России Владимир Путин подписал указ, объявляющий 2021 год Годом экологии. Главная задача — привлечь внимание к проблемам экологии и улучшить состояние экологической безопасности в стране.

На данный момент Белгородская область продолжает занимать второе место в рейтинге самых чистых городов России согласно данным организации «Зеленый патруль» (11). Но, несмотря на это, в нашем регионе сохраняются экологические проблемы, требующие решения. Например, выбросы от промышленных предприятий, таких как «Оскольский электрометаллургический комбинат», г. Старый Оскол; «Лебединский ГОК», г. Губкин; «Осколцемент», г. Старый Оскол, а также «Белгородский цемент», который до недавнего времени являлся одним из главных источников загрязнения окружающей среды в г. Белгороде. Сейчас предприятие сократило производство, но все еще оказывает негативное влияние на окружающую среду.

Автотранспорт по-прежнему остается одним из главных источников загрязнения воздушного бассейна. Согласно статистическому ежегоднику Белгородской области (15) на конец 2020 года выбросы загрязняющих веществ в атмосферу от автотранспорта составили 44 тысячи тонн.

Выявить негативные изменения среды на ранних стадиях и своевременно применить необходимый комплекс мероприятий позволяет оценка состояния древесных растений методом биохимического тестирования (13). Достаточно часто учитывается активность ферментов антиоксидантной системы растений (АОС). Наибольшее значение в ней придается низкомолекулярным метаболитам, которые являются антиоксидантами (такие как, например, аскорбиновая кислота), и высокомолекулярным метаболитам – антиоксидантным ферментам (4).

**Актуальность.** Экологическая доктрина Российской Федерации 2002 г. указывает, что «требуется совершенствование системы показателей, создание методологии экологического мониторинга, включая комплексную оценку состояния окружающей среды».

Определение содержания аскорбиновой кислоты в листьях березы повислой (*Betula pendula* Roth.) йодометрическим титрованием как метод оценки уровня загрязнения окружающей среды

Одними из наиболее чувствительных организмов к воздействию вредных веществ считаются растения, так как они быстро реагируют даже на низкие концентрации загрязнителей. Кроме того, они отражают состояние воздушной и почвенной среды, а их реакция поддается прогнозу (9). В качестве объекта-биоиндикатора целесообразно взять березу повислую (*Betula pendula* Roth.), повсеместно распространенную в средней полосе России. В 2019 – 2020 гг. нами была проведена оценка состояния окружающей среды на 5 площадках с помощью определения морфологического параметра – показателя флуктуирующей асимметрии (ФА) листовой пластинки березы повислой (*Betula pendula* Roth.), и было подтверждено негативное влияние автотранспорта и цементного завода на состояние окружающей среды близлежащих территорий (17). Для наиболее полной оценки состояния окружающей среды необходимо анализировать у растений-биоиндикаторов не только морфологические, но и биохимические показатели, однако, последние недостаточно изучены как в целом, так и для конкретного вида (3). В связи с этим актуальным является исследование зависимости между содержанием аскорбиновой кислоты (одного из важнейших компонентов антиоксидантной системы растений) в листьях и уровня загрязненности окружающей среды.

**Гипотеза.** Мы предполагаем, что существует обратная зависимость между уровнем загрязнения окружающей среды и содержанием аскорбиновой кислоты в листьях березы повислой (*Betula pendula* Roth.).

**Цель проекта** – выявить зависимость содержания аскорбиновой кислоты в листьях березы повислой от уровня загрязнения окружающей среды.

**Задачи проекта:**

1. Определить содержание аскорбиновой кислоты в листьях березы повислой (*Betula pendula* Roth.), произрастающих на территориях с разной степенью техногенной нагрузки.
2. Выявить наличие (или отсутствие) зависимости между содержанием аскорбиновой кислоты и уровнем загрязненности окружающей среды,

Определение содержания аскорбиновой кислоты в листьях березы повислой (*Betula pendula* Roth.) йодометрическим титрованием как метод оценки уровня загрязнения окружающей среды выраженном в величине показателя ФА листовых пластинок березы повислой (*Betula pendula* Roth.).

3. Оценить возможность применения определения концентрации аскорбиновой кислоты в листьях березы повислой (*Betula pendula* Roth.) в качестве метода оценки и мониторинга состояния окружающей среды.

**Объект исследования** – листовые пластинки березы повислой (*Betula pendula* Roth.), произрастающей в условиях различной загрязненности окружающей среды.

**Предмет исследования** – содержание аскорбиновой кислоты в листовых пластинках березы повислой (*Betula pendula* Roth.), произрастающей в условиях различной загрязненности окружающей среды.

**Методы исследования:**

1. йодометрическое титрование;
2. статистический анализ полученных данных с использованием инструментов программы Microsoft Excel.

**Длительность исследования.** Проект выполнялся в течение 6 месяцев.

**Этапы осуществления проекта.**

Проект выполнялся в 3 этапа:

1. Предварительный этап (изучение литературы).
2. Основной этап (сбор материала, определение содержания аскорбиновой кислоты в листьях березы повислой).
3. Заключительный этап (статистическая обработка результатов, вычисление коэффициента корреляции между содержанием аскорбиновой кислоты и показателем ФА).

**Эффекты.** Результаты работы по данному проекту можно использовать:

1. При дальнейшем мониторинге состояния окружающей среды на выбранных площадках и оценке состояния окружающей среды на других территориях.
2. При оценке уровня адаптации березы повислой к техногенному воздействию.
3. При написании исследовательских и научных работ.

## 1. Теоретическая часть

### 1.1 Понятийный аппарат, используемый в проекте

**Активные формы кислорода (АФК)** - совокупность короткоживущих, взаимопревращающихся и относительно реакционноспособных форм кислорода, большинство которых являются свободными радикалами.

**Антиоксидантная система защиты (АОС)** – защита организма от свободных радикалов, которые образуются при окислительном стрессе. Осуществляется с помощью специальных веществ – антиоксидантов.

**Биоиндикация** - оценка состояния окружающей среды по состоянию организмов, в ней обитающих.

**Нормальное распределение** – распределение непрерывной случайной величины  $X$ , дифференциальная функция  $f(x)$  которой определяется формулой:

$$f(x) = \frac{1}{\sigma\sqrt{2\pi}} e^{-\frac{(x-\mu)^2}{2\sigma^2}}$$

$\mu$  Математическое ожидание  
 $\sigma$  Стандартное отклонение

**Окислительный стресс** - неконтролируемое повреждение молекул из-за их окисления, в норме всегда присутствует в фотосинтезирующих клетках растений, но возрастает при увеличении загрязненности среды.

**Свободные радикалы** – молекулы, содержащие один или более неспаренных электрона на внешней оболочке, что объясняет их высокую реакционную способность.

**Резистентность** – устойчивость.

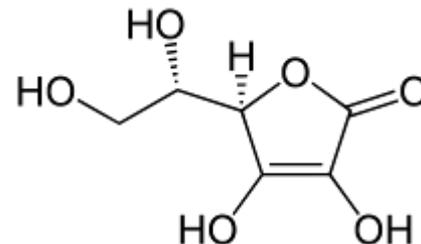
**Санитарно-защитные зоны предприятий** – специальная территория с особым режимом использования, которая устанавливается вокруг объектов и производств, являющихся источниками вредного воздействия на окружающую среду и здоровье человека.

**Урбаносреда** – среда города.

Определение содержания аскорбиновой кислоты в листьях березы повислой (*Betula pendula* Roth.) йодометрическим титрованием как метод оценки уровня загрязнения окружающей среды

## 1.2 Аскорбиновая кислота – важный компонент антиоксидантной системы растений

Образование кислорода при фотосинтезе приводит к тому, что растения ежесекундно подвергаются риску возникновения свободных радикалов, которые могут разрушить структуру не только пластид, но и самой клетки, и целой ткани. Для предотвращения этого процесса растения используют множество механизмов, один из которых – специальная система



*Структурная формула аскорбиновой кислоты*

антиоксидантной защиты, включающая как низкомолекулярные метаболиты (глутатион, каротиноиды, флавоноиды, аскорбиновая кислота и др.), так и макромолекулы (ферменты каталаза, пероксидаза, супероксид-дисмутаза и др.), которые тормозят развитие свободно-радикальных процессов окисления. Однако, в условиях повышенного загрязнения окружающей среды растение подвергается дополнительному окислительному стрессу, который возникает в результате действия практически всех неблагоприятных факторов внешней среды (18). Реакция организма на такой стресс индивидуальна, зависит от метаболизма конкретного растения и от условия произрастания, однако наблюдается определенная закономерность в этих ответных реакциях, которая является видоспецифичной.

Аскорбиновая кислота (аскорбат, витамин С, АК) является одним из наиболее изученных антиоксидантов, восстанавливает свободные радикалы до стабильных безопасных продуктов. Непосредственно может реагировать с супероксидом кислорода, перекисью водорода и радикалом токоферола (10), которые запускают цепные реакции образования свободных радикалов. Аскорбиновая кислота принимает участие в процессах дыхания, фотосинтеза, роста, цветения, вегетативной и репродуктивной дифференциации, в водном обмене, регуляции ферментативной активности, стимуляции метаболизма, связанных с обменом нуклеиновых кислот и синтезом белка (2). Синтез аскорбиновой кислоты зависит от экологических условий произрастания, поэтому

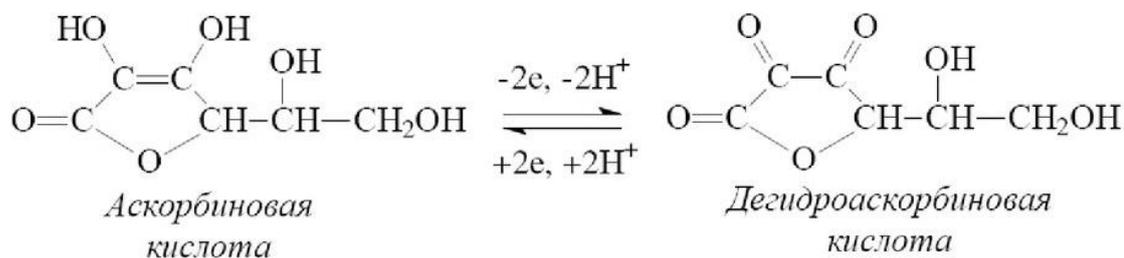
Определение содержания аскорбиновой кислоты в листьях березы повислой (*Betula pendula* Roth.) йодометрическим титрованием как метод оценки уровня загрязнения окружающей среды изменение концентрации аскорбиновой кислоты может являться биоиндикационным признаком экологической обстановки городской экосистемы (14). Содержание аскорбиновой кислоты значительно изменяется в течение вегетации: Г.М. Илькун отмечает, что с возрастом листа содержание аскорбиновой кислоты в нем увеличивается, что повышает резистентность растения (7).

### **1.3 Йодометрическое титрование – один из методов определения содержания аскорбиновой кислоты.**

Титриметрический анализ – это количественный химический метод анализа, который заключается в измерении объема стандартного раствора (титранта) с точно известной концентрацией, вступающего в реакцию с определяемым веществом. Стандартный раствор добавляется из бюретки по каплям к титруемому раствору. Процесс непрерывного, постепенного прибавления титранта к раствору определяемого вещества для определения точки эквивалентности называется титрованием. Момент, когда количество добавляемого титранта эквивалентно определяемому веществу, называется точкой эквивалентности (т.э.) или конечной точкой титрования (к.т.т.). В идеальном случае точкой эквивалентности и конечная точка титрования совпадают, однако в практических условиях между ними наблюдается некоторая разница. Чем больше эта разница, тем больше погрешность титрования при прочих равных условиях. Точку эквивалентности (т.э.) определяют по химическому индикатору - веществу, которое в области точки эквивалентности изменяет свой цвет, образует осадок или вызывает какой-то другой наблюдаемый эффект, или с помощью инструментальных индикаторов, приборов, фиксирующих изменение какого-то свойства среды в процессе титрования. (1)

Существует несколько различных методов определения содержания аскорбиновой кислоты: спектрофотометрический, потенциометрическое титрование, окислительно-восстановительное титрование и др. Последний метод наиболее простой и распространенный. Он основан на свойствах аскорбиновой

Определение содержания аскорбиновой кислоты в листьях березы повислой (*Betula pendula* Roth.) йодометрическим титрованием как метод оценки уровня загрязнения окружающей среды кислотой обратимо окисляется и восстанавливается из-за наличия двойной связи в молекуле:



Для окислительно-восстановительного титрования АК чаще всего используются два титранта – краска Тильманса (2,6-дихлорфенолиндофенол) и йод. В данной работе мы использовали йод как более доступный реактив.

#### 1.4 Береза повислая (*Betula pendula* Roth.) как вид биоиндикатор

Береза повислая (*Betula pendula* Roth.) – листопадное дерево семейства березовых, высотой до 30 м с гладкой, белой, легко расслаивающейся корой, произрастает на большей части территории страны. Наиболее обильна в Западной и Средней Сибири, а также в средней полосе европейской части России.

Береза повислая как биоиндикатор широко используется для оценки различного рода загрязнений: химического, радиационного, неионизирующей радиацией (электромагнитными волнами), выбросами автотранспорта (8), а также для оценки комплексного антропогенного воздействия (9). В отношении ее газоустойчивости в литературе имеются различные данные, однако, большинство авторов относит березу повислую к газоустойчивым видам.

Результаты исследований зависимости содержания аскорбиновой кислоты в листьях березы повислой от степени загрязненности окружающей среды также весьма противоречивы. Одни авторы отмечают стабильное повышение содержания этого метаболита при ухудшении условий среды (13, 18), другие авторы говорят об обратной зависимости (2, 4, 19). В ряде работ регистрируется повышение содержания аскорбиновой кислоты на санитарно-защитных зонах предприятий и снижение в магистральных насаждениях (3, 6). Авторы объясняют

Определение содержания аскорбиновой кислоты в листьях березы повислой (*Betula pendula* Roth.) йодометрическим титрованием как метод оценки уровня загрязнения окружающей среды это наличием иных физиологических процессов, компенсирующих негативное воздействие техногенной нагрузки в урбаносреде (6).

### **1.5 Оценка состояния окружающей среды методом определения показателя флуктуирующей асимметрии (ФА)**

Метод оценки состояния окружающей среды по показателю флуктуирующей асимметрии (ФА) основан на измерении ненаправленных, незначительных отклонений от строгой билатеральной симметрии биообъекта (17). Вычисляется интегральный показатель ФА, отражающий стабильность развития организма, который затем переводится в баллы, соответствующие определенному состоянию окружающей среды на данной территории. Чем выше полученный показатель ФА, тем выше уровень загрязненности окружающей среды.

В предыдущем исследовании (17) мы рассмотрели влияние на окружающую среду двух объектов – автотранспорта и цементного завода, проведя оценку ее состояния путем определения интегрального показателя ФА листовых пластинок березы повислой на 5 выбранных нами площадках (Приложение № 1).

В настоящем исследовании предполагается использовать полученные результаты по состоянию окружающей среды на выбранных площадках для выявления зависимости между содержанием аскорбиновой кислоты в листьях березы повислой (*Betula pendula* Roth.), произрастающей на этих территориях, и показателем ФА, который отражает степень загрязненности окружающей среды (Приложение № 2).

## **2. Практическая часть**

### **2.1 Сбор материала**

Анализ содержания аскорбиновой кислоты в листьях березы повислой (*Betula pendula* Roth.) проводился на 5 площадках, которые были выбраны в предыдущем исследовании. Площадка № 2 была взята за контрольную.

Нумерация площадок сохранилась прежней:

№ 1. Проспект Богдана Хмельницкого, г. Белгород

№ 2. Пос. Безлюдовка, Шебекинский район

№ 3. Автомагистраль Белгород-Шебекино

№ 4. Заводской переулоч 1, г. Белгород (расположена вблизи ЗАО «Белгородский цемент»)

№ 5. Парк Победы, г. Белгород

Сбор материала проводился в июле (после остановки роста листьев) с тех же деревьев, с которых были собраны листья для определения показателя ФА в предыдущем исследовании. На каждой площадке были выбраны 5 деревьев березы повислой, достигших генеративного возраста.

Листья собирались по 10 шт. с каждой березы из верхней трети части кроны в сухую погоду, в утренние часы после высыхания росы. Выбирались побеги одного типа – брахибласты (укороченные побеги). Материал помещался в полиэтиленовый пакет, на котором указывался номер выборки, место и дата сбора.

### **2.2 Анализ содержания аскорбиновой кислоты методом йодометрического титрования**

#### **2.2.1. Лабораторное оборудование и реактивы**

При анализе использовалось оборудование: весы электронные для высокоточного взвешивания мелких предметов с наибольшим пределом взвешивания 100 г и допусковой погрешностью  $\pm 0,01$  г., часы, воронки лабораторные стеклянные различного диаметра, колбы мерные лабораторные

Определение содержания аскорбиновой кислоты в листьях березы повислой (*Betula pendula* Roth.)

йодометрическим титрованием как метод оценки уровня загрязнения окружающей среды  
стеклянные объемом от 100 мл до 1 л, бюретка без крана вместимостью 50 мл и ценой деления 0,1 мл, палочки стеклянные, пипетки мерные лабораторные стеклянные вместимостью 10мл, стаканы лабораторные стеклянные вместимостью 100 и 50 мл, ступка и пестик лабораторные фарфоровые, цилиндры лабораторные мерные стеклянные вместимостью 10,50 и 100 мл, ножницы канцелярские, спринцовка резиновая медицинская объемом 50 мл, шпатель, песок кварцевый очищенный и прокаленный, вода дистиллированная, фильтры обеззоленные (красная лента) различного диаметра

При анализе использовались реактивы:

- Фиксанал 0,1 н тиосульфата натрия
- Кислота щавелевая кристаллическая
- Кислота соляная концентрированная с массовой долей 30%
- Раствор йода
- Крахмал

### 2.2.2. Правила титрования

При выполнении практической части для получения максимально точных результатов соблюдались правила титрования (1):

1. Следует устанавливать титр стандартного раствора и применять один и тот же раствор в присутствии одного и того же индикатора.
2. Следует брать всегда одно и тоже количество индикатора и повторять титрование определяемого вещества несколько раз до тех пор, пока не будут получены близко сходящиеся результаты, то есть совпадающие между собой в пределах 0,2-0,3% (в нашем случае это  $\pm 0,1$  мл ушедшего раствора титранта).
3. Брать не более 1-2 капель индикатора, не забывая, что индикаторы, применяемые в методе нейтрализации, сами являются кислотами или основаниями. На их нейтрализацию также расходуется часть раствора титранта.

Определение содержания аскорбиновой кислоты в листьях березы повислой (*Betula pendula* Roth.) йодометрическим титрованием как метод оценки уровня загрязнения окружающей среды

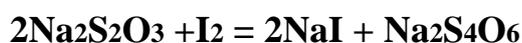
4. Титровать всегда следует до одного и того же оттенка окраски раствора, используя для титрования по возможности одинаковые объемы титруемого раствора.
5. Необходимо выбирать такой индикатор, который изменяет свой цвет вблизи точки эквивалентности.

### 2.2.3 Приготовление реактивов:

- 1) Приготовили 1% раствор щавелевой кислоты
- 2) Приготовили 2% раствор соляной кислоты
- 3) Заварили крахмальный клейстер
- 4) Провели стандартизацию раствора йода (1) (Приложение № 3) .

Для стандартизации раствора йода заполнили бюретку раствором тиосульфата натрия. Отобрали пипеткой 12 мл анализируемой раствора и перенесли в коническую колбу для титрования, добавили 5 мл раствора серной кислоты. Титровали тиосульфатом натрия до желтой окраски суспензии. После этого добавили 1 – 2 мл индикатора (раствор крахмала) и продолжили титрование до исчезновения синей окраски и образования осадка цвета слоновой кости (бледно-розовый цвет). В процессе титрования раствор с осадком тщательно перемешивали, титровали до сходимости результатов.

Уравнение реакции:



Расчет концентрации раствора йода:

$$C = \frac{V_T * C_N}{V_i} * f = \frac{3.9 * 0.1}{12} * \frac{1}{2} = 0.01625 \text{ M}$$

где:

C- концентрация раствора йода (моль/л)

V<sub>T</sub>-объем тиосульфата натрия, пошедшего на титрование йода (мл)

C<sub>N</sub>- концентрация раствора тиосульфата натрия (н)

V<sub>i</sub>-объем раствора йода, взятого на титрование (мл)

F - фактор эквивалентности йода (1/2)

Определение содержания аскорбиновой кислоты в листьях березы повислой (*Betula pendula* Roth.) йодометрическим титрованием как метод оценки уровня загрязнения окружающей среды

### 2.2.4 Приготовление вытяжки

Навеску в 6 г листьев (без жилок, предварительно измельченных), растерли в ступке с 20 мл 1%-ной соляной кислоты до образования гомогенной массы (16). Процесс растирания длился не больше 10 мин. Полученную массу слили из ступки (через стеклянную палочку и воронку) в мерную колбу на 100 мл. Ступку сполоснули несколько раз 1%-ной щавелевой кислотой, и раствор вылили в ту же колбу. Содержимое колбы довели до метки 1%-ной щавелевой кислотой, закрыли пробкой, сильно встряхнули и оставили стоять 10 мин. Затем содержимое колбы отфильтровали в сухую колбу (Приложение № 4).

Соляная кислота извлекает из растительной ткани как свободную, так и связанную аскорбиновую кислоту. Щавелевая же кислота улучшает стойкость аскорбиновой кислоты в экстрактах.

### 2.2.5 Титрование

В колбу для титрования отобрали по 10 мл фильтрата, добавили 2 мл крахмального клейстера (индикатор) (5). Смесь перемешали и титровали раствором йода до устойчивого синего окрашивания. Титровали до сходимости результатов (Приложение № 5).

### 2.2.6 Расчет содержания аскорбиновой кислоты

Уравнение реакции:



Формула расчета:

$$X = \frac{V1 * m1 * V2 * 100}{m2 * V3} \quad \text{где:}$$

**X** – содержание аскорбиновой кислоты в мг% (мг аскорбиновой кислоты в 100 г анализируемого образца)

**V1** - объем йода, пошедшего на титрование (мл)

**V2** - объем приготовленного фильтрата (100 мл)

Определение содержания аскорбиновой кислоты в листьях березы повислой (*Betula pendula* Roth.) йодометрическим титрованием как метод оценки уровня загрязнения окружающей среды

**V3** - объем фильтрата, взятого на титрование (10 мл)

**m1** - масса аскорбиновой кислоты, которую окисляет 1 мл раствора йода с концентрацией 0,01625 М:

$$v(I_2) = C * V = 0.01625 \text{ М} * 0,001 \text{ л} = 0,00001625 \text{ моль} = v \text{ (АК)}$$

$$m \text{ (АК)} = v * M = 0.00001625 \text{ моль} * 176,12 \text{ г/моль} = 2,862 \text{ мг}$$

**m2** – масса навески листьев (6 г)

Для каждой площадки рассчитывалось среднее содержание аскорбиновой кислоты на основании данных полученных по 5 деревьям. Расчеты производились с помощью программы Microsoft Excel.

### 2.3 Статистическая обработка результатов

С помощью программы Microsoft Excel были рассчитаны следующие показатели (12):

#### 1. Стандартное отклонение, дисперсия выборки

Эти показатели отражают степень разнообразия объектов по изучаемому признаку (содержанию аскорбиновой кислоты в листьях). Стандартное отклонение вычисляется по формуле:

$$\sigma = \sqrt{\frac{\sum (V - M)^2}{n - 1}},$$

где  $\sigma$  – стандартное отклонение (сигма),  $V$  – значение признака,  $M$  – среднее значение признака в выборке,  $n-1$  – число объектов в выборке, за исключением одного. Дисперсия ( $\sigma^2$ ) представляет собой квадрат величины стандартного отклонения.

#### 2. Ошибка репрезентативности средней арифметической, доверительный интервал

Данные параметры позволяют оценить интервал значений, в котором с заданной вероятностью (в данной работе вероятность равна 0,95) находится исследуемый признак.

Ошибка репрезентативности средней арифметической вычисляется по

Определение содержания аскорбиновой кислоты в листьях березы повислой (*Betula pendula* Roth.) йодометрическим титрованием как метод оценки уровня загрязнения окружающей среды

формуле:

$$m = \frac{\sigma}{\sqrt{n}}, \quad \text{где } \sigma \text{ – среднее квадратическое отклонение, } n \text{ – объем выборки}$$

Доверительный интервал вычисляется по формуле:

$$\Delta = t_{st} \cdot m,$$

где  $m$  – ошибка средней арифметической,  $t_{st}$  – стандартное значение критерия Стьюдента при степени свободы ( $n-1=4$ ) и пороге вероятности безошибочных прогнозов (0,95). Определяется по таблице (Приложение № 6).

### 3. Критерий Стьюдента

Данный критерий позволяет определить, достоверно ли отличаются данные, полученные в разных экспериментах. Вычисляется следующим образом:

$$t_d = \frac{d}{m_d} = \frac{M_1 - M_2}{\sqrt{m_1^2 + m_2^2}} \geq t_{st} (v_d = n_1 + n_2 - 2),$$

где  $M_1$  и  $M_2$  – средние арифметические двух сравниваемых выборок (при этом  $M_1 > M_2$ ),  $m_1$  и  $m_2$  ошибки репрезентативности сравниваемых выборочных средних;  $v_d$  – число степеней свободы для разности двух средних;  $t_{st}$  – стандартное значение критерия, определяемое по таблице критериев Стьюдента, для заданного порога вероятности безошибочных прогнозов (0,95), в зависимости от числа степеней свободы;  $n_1$  и  $n_2$  – численность сравниваемых выборок.

Применение t-критерия Стьюдента для сравнения двух выборок требует обязательной нормальности распределения исследуемого признака в обеих группах и столь же обязательного равенства дисперсий в сравниваемых совокупностях. Так как в настоящем эксперименте число результатов измерений  $n$  15, то их принадлежность к нормальному распределению не проверялась (2). Для проверки гипотезы о равенстве двух генеральных дисперсий нормально распределенных совокупностей использовался  $F$  – критерий Фишера

### 4. F-критерий Фишера

Вычисляется по формуле:

$$F_d = \frac{(M_1 - M_2)^2}{\sigma_z^2} \cdot \frac{n_1 \cdot n_2}{n_1 + n_2} \geq F_{st} \{v_1=1; v_2=n_1+n_2-2\},$$

Определение содержания аскорбиновой кислоты в листьях березы повислой (*Betula pendula* Roth.) йодометрическим титрованием как метод оценки уровня загрязнения окружающей среды

где  $F_d$  – критерий достоверности разности по Фишеру;  $M_1$  и  $M_2$  – средние арифметические двух сравниваемых выборок;  $n_1$  и  $n_2$  – численность сравниваемых выборок;  $F_{st}$  – стандартные значения критерия Фишера, находимые по двум степеням свободы, из которых первая всегда равна единице, а вторая – сумме объемов выборок минус два;  $\sigma^2$  – варианса случайного разнообразия в однофакторном дисперсионном комплексе, составленном из двух изучаемых выборок.

$$\sigma^2 = \frac{\sum(V_1 - M_1)^2 + \sum(V_2 - M_2)^2}{n_1 + n_2 - 2},$$

где  $V_1$  и  $V_2$  – значения признаков;  $M_1$  и  $M_2$  – средние арифметические признака в двух сравниваемых выборках;  $n_1$  и  $n_2$  – численность сравниваемых выборок (Приложение № 7).

#### 5. Коэффициент корреляции Пирсона

Коэффициентом корреляции можно определить наличие, степень и направление прямолинейных связей между содержанием аскорбиновой кислоты в листьях и показателем ФА на данной площадке. Его значения лежат в пределах от -1 до 0 при обратной связи, и от 0 до +1 при прямой связи. При независимом варьировании признаков, когда связь между ними полностью отсутствует  $r=0$ . Значения коэффициента до 0,3 – это слабая корреляции, в диапазоне 0,31-0,5 – умеренная, 0,51-0,7 – значительная, 0,71-0,9 – высокая, от 0,91 и более – очень высокая. Коэффициент корреляции  $r$  вычисляется по формуле:

$$r = \frac{\sum(x - \bar{x})(y - \bar{y})}{\sqrt{\sum(x - \bar{x})^2 \sum(y - \bar{y})^2}}$$

где  $x$  и  $y$  – сравниваемые количественные признаки (среднее значение содержания аскорбиновой кислоты в листьях и значения показателя ФА,  $\bar{X}$  и  $\bar{Y}$  – средние значения сравниваемых признаков).

## 2.4 Результаты и обсуждение

Обработанные с помощью методов математической статистики результаты исследования среднего содержания аскорбиновой кислоты в листьях березы повислой отражены в таблице и гистограмме (Приложение № 8).

Определение содержания аскорбиновой кислоты в листьях березы повислой (*Betula pendula* Roth.) йодометрическим титрованием как метод оценки уровня загрязнения окружающей среды

Значения F-критерия Фишера подтверждают гипотезу о равенстве дисперсий совокупностей ( $F_d < F_{st}$ ,  $F_{st} = 5,32$  при уровне значимости  $P = 0,05$ ), что делает возможным применение критерия Стьюдента для анализируемых выборок (Приложение № 9).

Все полученные данные по среднему содержанию аскорбиновой кислоты достоверно различаются при попарном сравнении результатов ( $t_d \geq t_{st}$ ,  $t_{st} = 2,31$  при вероятности ошибочной оценки  $P=0,05$ ), кроме площадок № 1 и № 3 (Приложение № 10).

Сравнение значений показателя ФА и среднего содержания АК листьях проводился по таблице (Приложение № 11).

Наибольшее содержание аскорбиновой кислоты в листьях березы повислой было зарегистрировано на контрольной площадке № 2 (пос. Безлюдовка, Шебекинский район) –  $619,86 \pm 7,2$  мг%, что согласуется с оценкой состояния окружающей среды на данной площадке – показатель ФА здесь самый низкий - 0,036.

Несколько ниже содержание аскорбиновой кислоты в листьях на площадке № 5 (Парк Победы, г. Белгород) –  $376,64 \pm 6,0$  мг%. По величине показателя ФА, а значит и по уровню загрязненности окружающей среды, эта площадка также располагается на втором месте после площадки № 2 – 0,053.

Полученные данные на площадках № 1 (Проспект Богдана Хмельницкого, г. Белгород) и № 3 (Автомобильная магистраль Белгород-Шебекино) достоверно не различаются ( $t_{st} < 2,31$  при вероятности ошибочной оценки  $P=0,05$ ). Полученное содержание аскорбиновой кислоты на этих площадках составляет  $342,36 \pm 7,2$  мг% и  $341,48 \pm 5,3$  мг% соответственно. Измеренные здесь показатели ФА больше, чем на площадках № 2 и № 5, также приблизительно равные (0,059 на площадке № 1 и 0,06 на площадке № 3)

Наименьшее количество аскорбиновой кислоты содержат листья березы повислой, произрастающей на площадке № 4 (Заводской переулок 1, г. Белгород) –  $262,42 \pm 6,2$  мг%. На данной площадке состояние окружающей среды оценивается в V баллов, а показатель ФА самый высокий - 0,1.

Анализ корреляции показателя ФА и содержания аскорбиновой кислоты на

Определение содержания аскорбиновой кислоты в листьях березы повислой (*Betula pendula* Roth.) йодометрическим титрованием как метод оценки уровня загрязнения окружающей среды исследуемых площадках показал наличие высокой обратной связи ( $r = -0.8184$ ) (Приложение № 11). Поскольку значение показателя ФА и степень загрязненности окружающей среды находятся в прямой зависимости, можно утверждать, что чем выше показатель ФА и, соответственно, хуже состояние окружающей среды, тем ниже содержание аскорбиновой кислоты в листьях березы повислой (*Betula pendula* Roth.).

Полученное снижение содержания аскорбиновой кислоты по сравнению с контрольной площадкой, на наш взгляд, может свидетельствовать либо о серьезной техногенной нагрузке на данных территориях, либо о наличии у берез иных адаптационных механизмов, которые еще предстоит исследовать.

## 2.5 Заключение и выводы

1. На всех исследуемых площадках было определено содержание аскорбиновой кислоты в листьях березы повислой (*Betula pendula* Roth.).

Наибольшее содержание аскорбиновой кислоты наблюдается в листьях берез, произрастающих на площадке № 2 (пос. Безлюдовка Шебекинского района) -  $619,86 \pm 7,2$  мг%, наименьшее - на площадке № 4 (Заводской переулочек 1, г. Белгород (расположена вблизи ЗАО «Белгородский цемент»)) -  $262,42 \pm 6,2$  мг%, что согласуется с рассчитанными показателями ФА на данной территории: ФА на площадке № 2 = 0,036 (наименьший показатель), на площадке № 4 - ФА = 0,1 (наибольший показатель).

Результаты, полученные на площадках № 1 (Проспект Богдана Хмельницкого, г. Белгород) -  $342,36 \pm 7,2$  мг% и № 3 (Автомагистраль Белгород-Шебекино) -  $341,48 \pm 5,3$  мг% достоверно не отличаются, показатели ФА здесь также приблизительно одинаковые (0,059 и 0,06 соответственно).

Площадка № 5 занимает второе место после площадки № 2 как по содержанию аскорбиновой кислоты ( $376,64 \pm 6,0$  мг%), так и по показателю ФА (0,053).

2. Показано наличие обратной зависимости между содержанием аскорбиновой кислоты в листьях березы повислой и показателем ФА, а, следовательно, и

Определение содержания аскорбиновой кислоты в листьях березы повислой (*Betula pendula* Roth.) йодометрическим титрованием как метод оценки уровня загрязнения окружающей среды состоянием окружающей среды: чем выше уровень загрязнения окружающей среды, тем выше показатель ФА, и тем ниже содержание аскорбиновой кислоты в листьях березы повислой. Наша гипотеза подтвердилась.

3. Выявленную зависимость можно использовать для мониторинга и оценки состояния окружающей среды, однако, для применения этой зависимости на других территориях необходимы дополнительные исследования.

Для снижения экологических рисков, с одной стороны, необходимо вести мониторинг состояния окружающей среды на урбанизированных территориях с помощью объектов живой природы, например, путем определения содержания аскорбиновой кислоты в листьях растений. С другой стороны, нужно продолжать оптимизацию работы промышленных предприятий и иных объектов, являющимися источниками загрязнения окружающей среды. Этого можно достичь за счет:

а) внедрения современной безотходной технологии. Например, сейчас все больше автомобилей используют фильтры для двигателей и каталитические дожигатели. Также с октября 2021 г. в г.Белгороде в тестовом режиме работает электробус.

б) использование различных очистительных сооружений. Так в 2019 г. в Белгородской области установки для улавливания и обезвреживания вредных веществ очищали 3,2 тыс. м<sup>3</sup> отходящих газов в час. (15).

в) использование новых видов топлива. В соответствии с опубликованной правительством Белгородской области уточненной «дорожной картой» проводится политика по увеличению количества автотранспорта на экологически чистом компримированном природном газе, и к 2022 году оно должно вырасти с 1,24 тыс. до 18,5 тыс.

Белгородская область занимает лидирующие позиции по количеству высаженных деревьев в рамках акции «Сохраним лес», в которой принимают участие и ученики нашей школы.

## Библиография

1. Аналитическая химия: лабораторный практикум / Т.Г. Буржинская, И.П.Блинова, С.И.Толстова, Н.Г.Габрук. – Белгород: ИД «БелГУ» НИУ «БелГУ», 2021. – 84 с.
2. Баландайкин М.Э. Коррелированние содержания аскорбиновой кислоты в ассимиляционном аппарате *Betula pendula* Roth. с действием патологического агента // Химия растительного сырья. 2014. № 1. С. 153-157
3. Бухарина И.Л., Поварницина Т.М., Ведерников К.Е. Экологобиологические особенности древесных растений в урбанизированной среде: монография. – Ижевск: ФГОУ ВПО Ижевская ГСХА, 2007. – 216 с.
4. Гарифзянов А.Р., Жуков Н.Н., Иванищев В.В. Образование и физиологические реакции активных форм кислорода в клетках растений // Современные проблемы науки и образования. – 2011. – № 2. – 161-183 с.
5. Гуськова В.П., Сизова Л.С. Химические методы исследования свойств сырья и продукции: учебное пособие. Часть 2. Лабораторный практикум, Кемеровский технологический ин-т пищевой пром-ти.– Кемерово, 2007- 40с.
6. Зарипова Р. С., Кузьмин П.А. Влияние антропогенного стресса на динамику аскорбиновой кислоты в растениях // Инновационная наука. 2015. № 5. – С. 24-26
7. Илькун Г.М. Газоустойчивость растений. Вопросы экологии и физиологии. Монография. – Киев: Наук. думка, 1971. – 146 с.
8. Кустова Л.М. Применение методов флуктуирующей асимметрии листовой пластинки березы повислой (*Betula pendula roth*) для оценки экологического состояния придорожных полос г. Казани: дипломная работа. 020803.65 – биоэкология – Казань, 2013 – 112 с.
9. Луцкан, Е.Н. Флуктуирующая асимметрия березы плосколистной (*Betula platyphylla* Sukacz.) как критерий качества городской среды и территорий, подверженных антропогенному воздействию (на примере Алданского района Республики Саха (Якутия): автореферат диссертации кандидата

- Определение содержания аскорбиновой кислоты в листьях березы повислой (*Betula pendula* Roth.) йодометрическим титрованием как метод оценки уровня загрязнения окружающей среды биологических наук: 03.02.08/ Е.Н. Луцкан; конс. Т.В. Жуйкова, - Якутск: б.и, 2016 – С. 46 – Текст: непосредственный.
10. Малева М.Г., Борисова Г.Г., Ширяев Г.И., Лукина П.Ю. Изменение содержания низкомолекулярных антиоксидантов в листьях белокрыльника болотного в условиях техногенного загрязнения. В сборнике: Механизмы устойчивости растений и микроорганизмов к неблагоприятным условиям среды. В 2-х ч. Ч. 2. –Иркутск: Институт географии им. В.Б. Сочавы Сибирского отделения РАН, 2018. – С. 1079-1083.
11. Национальный экологический рейтинг. Зеленый патруль// [Официальный сайт]. URL: <https://www.greenpatrol.ru/ru/novosti/nacionalnyy-ekologicheskiy-reyting-regionov-ekologicheskie-itogi-vesny-2021-g>
12. Практикум по биометрии: учебное пособие / Э.А. Снегин. – Белгород: ИД «Белгород» НИУ «БелГУ», 2016 – 56 с.
13. Рябухина М.В., Филиппова А.В., Белопухов С.Л., Федорова Т.А. Мониторинг дендрофлоры городской среды методом оценки биохимических маркерных показателей // Вестник Российского университета дружбы народов. Серия: Агротомия и животноводство, 2015 – 12-17 с.
14. Скобельцина А.В., Просянникова Е.Б. Анализ фракционного состава воды в листьях древесных растений в условиях города // Ученые записки Забайкальского государственного гуманитарно-педагогического университета им. Н.Г. Чернышевского. – 2011. – № 1 (36). – С. 116-121.
15. Статистический ежегодник. Белгородская область. 2021: Стат. сб./ Белгородстат. – Белгород, 2021. – 30 с.
16. Федулов Ю.П., Доценко К.А., Тосунов Я.К. Методическое указание к лабораторным занятиям по биохимии растений с основами теории для студентов агробιοлогическιх специальностей, Краснодар, Куб-ГАУ, - 2013 – 83 с.
17. Шевцова А.В., Князева Н.В. Оценка состояния окружающей среды методом определения показателя флуктуирующей асимметрии листовых пластинок

- Определение содержания аскорбиновой кислоты в листьях березы повислой (*Betula pendula* Roth.) йодометрическим титрованием как метод оценки уровня загрязнения окружающей среды березы повислой (*Betula pendula* Roth): экологический проект – Белгород, 2020. (ссылка на работу: <https://cloud.mail.ru/public/uiMP/44oMFr37r>)
18. Экологические методы диагностики жизнеспособности древесных растений: практикум / С.Н. Жакова, Е.В. Пименова, С.В. Лихачев; Министерство сельского хозяйства Российской Федерации, федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Пермский аграрно-технологический университет имени академика Д.Н. Прянишникова». – Пермь: ИПЦ «Прокрость», 2020. – 54 с; 21см. – Библиогр.: с. 52-54 – 35 экз. – ISBN 978-5-94279-500-9. Текст: непосредственный
19. Dr. J. R. Mulay, "Roadside Plants as Bio-indicators of Urban Air Pollution", International Journal of Scientific Research in Science and Technology (IJSRST), Online ISSN : 2395-602X, Print ISSN : 2395-6011, Volume 7 issue 4, pp. 321-326, July-August 2020. Available at doi:<https://doi.org/10.32628/IJSRST1207482> Journal URL : <http://ijsrst.com/IJSRST1207482>
20. J.S. Jyothi, and Jaya, Evaluation of air pollution tolerance index of selected plant species along roadsides in Thiruvananthapuram, Kerala, Journal of Environmental Biology, 31, 2010, 379-386.

**Места сбора материала**

**Площадка №1**



**Площадка № 4**



**Площадка № 2**



**Площадка № 5**

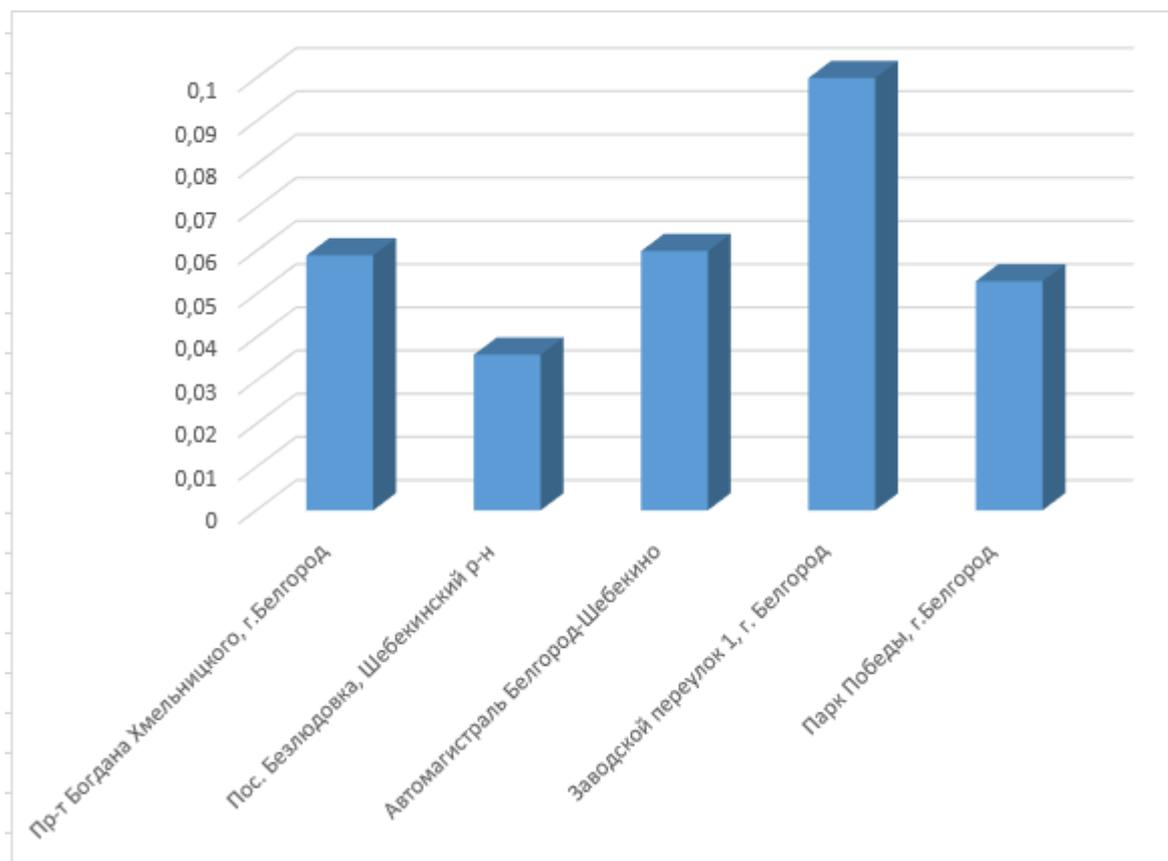


**Площадка № 3**



### Показатели ФА и состояние окружающей среды на исследуемых площадках

Место сбора	Показатель ФА выборки	балл	качество среды
Пр-т Богдана Хмельницкого, г. Белгород	0,059	IV	Существенное отклонение от нормы
Пос. Безлюдовка, Шебекинский р-н	0,036	I	условно нормальное
Автоматрираль Белгород-Шебекино	0,06	V	критическое состояние
Заводской переулок 1, г. Белгород	0,1	V	критическое состояние
Парк Победы, г. Белгород	0,053	IV	Существенное отклонение от нормы



**Стандартизация раствора йода**



Определение содержания аскорбиновой кислоты в листьях березы повислой (*Betula pendula* Roth.)  
йодометрическим титрованием как метод оценки уровня загрязнения окружающей среды

## Приложение № 4

### Приготовление вытяжки



Определение содержания аскорбиновой кислоты в листьях березы повислой (*Betula pendula* Roth.)  
йодометрическим титрованием как метод оценки уровня загрязнения окружающей среды

## Приложение № 5

### Йодометрическое титрование



**Стандартные значения критерия Стьюдента**

v	P				
	0,90	0,95	0,98	0,99	0,999
1	6,31	12,71	31,82	63,66	636,62
2	2,92	4,30	6,96	9,92	31,60
3	2,35	3,18	4,54	5,84	12,92
4	2,13	2,78	3,75	4,60	8,61
5	2,02	2,57	3,36	4,03	6,87
6	1,94	2,45	3,14	3,71	5,96
7	1,89	2,36	3,00	3,50	5,41
8	1,86	2,31	2,90	3,36	5,04
9	1,83	2,26	2,82	3,25	4,78
10	1,81	2,23	2,76	3,17	4,59
11	1,80	2,20	2,72	3,11	4,44
12	1,78	2,18	2,68	3,05	4,32
13	1,77	2,16	2,65	3,01	4,22
14	1,76	2,14	2,62	2,98	4,14
15	1,75	2,13	2,60	2,95	4,07

Приложение № 7

Значения *F*-критерия Фишера при уровне значимости  $P = 0,05$

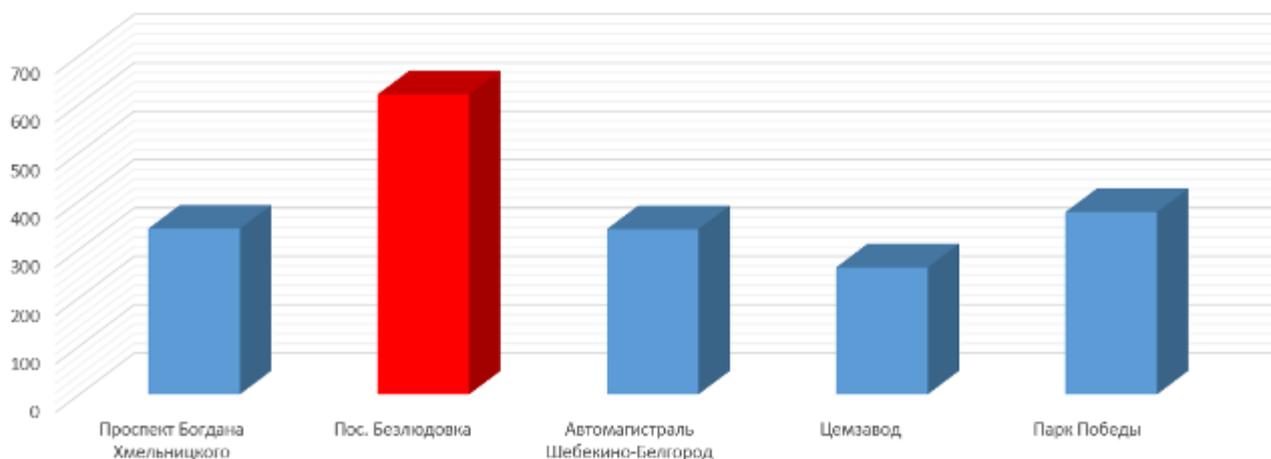
$v_2 \backslash v_1$	1	2	3	4	5	6	8	12	24	$\infty$
1	161,4	199,5	215,7	224,5	230,1	233,9	238,8	243,9	249,0	254,3
2	18,51	19,00	19,16	19,25	19,30	19,33	19,37	19,41	19,45	19,50
3	10,13	9,55	9,28	9,12	9,01	8,94	8,84	8,74	8,64	8,53
4	7,71	6,94	6,59	6,39	6,26	6,16	6,04	5,91	5,77	5,63
5	6,61	5,79	5,41	5,19	5,05	4,95	4,82	4,68	4,53	4,36
6	5,99	5,14	4,76	4,53	4,39	4,28	4,15	4,00	3,84	3,67
7	5,59	4,74	4,35	4,12	3,97	3,87	3,73	3,57	3,41	3,23
8	5,32	4,46	4,07	3,84	3,69	3,58	3,44	3,28	3,12	2,93
9	5,12	4,26	3,86	3,63	3,48	3,37	3,23	3,07	2,90	2,71
10	4,96	4,10	3,71	3,48	3,33	3,22	3,07	2,91	2,74	2,54
11	4,84	3,98	3,59	3,36	3,20	3,09	2,95	2,79	2,61	2,40
12	4,75	3,88	3,49	3,26	3,11	3,00	2,85	2,69	2,50	2,30
13	4,67	3,80	3,41	3,18	3,02	2,92	2,77	2,60	2,42	2,21
14	4,60	3,74	3,34	3,11	2,96	2,85	2,70	2,53	2,35	2,13
15	4,54	3,68	3,29	3,06	2,90	2,79	2,64	2,48	2,29	2,07
16	4,49	3,63	3,24	3,01	2,85	2,74	2,59	2,42	2,24	2,01
17	4,45	3,59	3,20	2,96	2,81	2,70	2,55	2,38	2,19	1,96
18	4,41	3,55	3,16	2,93	2,77	2,66	2,51	2,34	2,15	1,92
19	4,38	3,52	3,13	2,90	2,74	2,63	2,48	2,31	2,11	1,88
20	4,35	3,49	3,10	2,87	2,71	2,60	2,45	2,28	2,08	1,84

## Приложение № 8

### Полученные данные по среднему содержанию аскорбиновой кислоты в листьях березы повислой (*Betula pendula* Roth.) на исследуемых площадках и их статистическая обработка

Критерий/Номер площадки	№ 1	№ 2	№ 3	№ 4	№ 5
Содержание АК дерево № 1	340,6	610	340,5	255,9	374,7
Содержание АК дерево № 2	347,3	613,5	350,9	266,2	386,2
Содержание АК дерево № 3	342,6	631,8	340,5	255,1	381,3
Содержание АК дерево № 4	351,6	624	341,6	271,9	370,5
Содержание АК дерево № 5	329,7	620	333,9	263	370,5
Среднее значение содержания АК	342,36	619,86	341,48	262,42	376,64
Дисперсия	68,303	74,348	37,032	50,147	48,068
Стандартное отклонение	8,265	8,623	6,085	7,081	6,933
Ошибка репрез-ти средней арифметической	4,132	4,311	3,043	3,541	3,467
Доверительный интервал	7,244	7,558	5,334	6,207	6,077

Среднее содержание аскорбиновой кислоты, мг%



(контрольная площадка на гистограмме отмечена красным цветом)

Определение содержания аскорбиновой кислоты в листьях березы повислой (*Betula pendula* Roth.)  
йодометрическим титрованием как метод оценки уровня загрязнения окружающей среды

## Приложение № 9

### Полученные значения F-критерия Фишера

Номер площадки	№ 1	№ 2	№ 3	№ 4	№ 5
№ 1					
№ 2	1,088502701				
№ 3	1,844431843	2,007669043			
№ 4	1,362055557	1,482601153	1,354153165		
№ 5	1,420966131	1,546725472	1,29801253	1,043251227	

Определение содержания аскорбиновой кислоты в листьях березы повислой (*Betula pendula* Roth.)  
йодометрическим титрованием как метод оценки уровня загрязнения окружающей среды

## Приложение № 10

### Полученные значения критерия Стьюдента

Номер площадок	№ 1	№ 2	№ 3	№ 4	№ 5
№ 1					
№ 2	46,4682				
№ 3	0,171485071	52,75509621			
№ 4	14,69016274	64,07036415	16,93483089		
№ 5	6,355481015	43,96531484	7,62279222	23,05065343	

*(Красным цветом помечено недостоверное различие между значениями,  
полученными на площадках № 1 и № 3)*

Определение содержания аскорбиновой кислоты в листьях березы повислой (*Betula pendula* Roth.) йодометрическим титрованием как метод оценки уровня загрязнения окружающей среды

## Приложение № 11

**Расчет коэффициента корреляции между содержанием аскорбиновой кислоты в листьях березы повислой (*Betula pendula* Roth.) и значением показателя ФА на исследуемых площадках**

Номер площадки	Значение ФА	Содержание АК	r
№ 1	0,059	342,36	-0,818430453
№ 2	0,036	619,86	
№ 3	0,06	341,48	
№ 4	0,1	262,42	
№ 5	0,053	376,64	