Молекулярные механизмы количественных сдвигов аскорбиновой кислоты в хвое ели в зависимости от места произрастания и срока хранения.

Секция естественных наук.
Авторы: Усенко Юлия, Халабуда Анна, 10 класс, МОАУ СОШ № 5.
Руководитель: Кошурникова Нелли Андреевна.
Научный консультант: профессор, д.м.н. Цапок Петр Иванович.

Аскорбиновая кислота (АК) представляет собой гамма лактон 2,3 – дегидро – L – гулоновой кислоты, причем биологической активностью обладает L – аскорбиновая кислота. Аскорбиновая кислота синтезируется всеми растениями и подавляющим большинством животных из глюкозы. Синтез АК включает ряд последовательных стадий:

ГЛЮ —> ГЛЮ – 6 – Ф —> 6 – фосфоглюколактон —> 6 – фосфоглюконовая кислота —> 3 – кето – 6 – фосфоглюконовая кислота —> аскорбиновая кислота

В организме человека и морских свинок синтез АК невозможен, поэтому она является витамином и должна поступать в организм с пищей. Минимальная потребность взрослого человека в АК 50 – 100 мг в сутки. При различных состояниях, связанных со стрессом и напряженностью адаптации, потребность в АК повышается, поэтому многие источники информации рекомендуют более значительные суточные дозы.

В природе существуют три формы данного витамина: восстановленная форма – L-аскорбиновая кислота, наиболее активная в витаминном отношении; продукт ее обратного окисления – дегидроаскорбиновая кислота, способная восстанавливаться, а также ее злачная растительная форма – аскорбиген. Последняя связанная форма наиболее устойчива к окислению и сохраняет примерно треть витаминной активности. Не менее 70 % АК в растениях находится в запасной форме. В кислых растворах АК и аскорбиген хорошо сохраняются и термостойки.

Хвоя различных видов растений (ель, сосна, можжевельник) помимо большого количества аскорбиновой кислоты, содержит также каратины, витамин Р, органические кислоты, сахара, эфирные масла, смолы, дубильные и минеральные вещества, фитонциды. Употребляют хвою в качестве витаминного средства, в народной медицине в качестве противовирусного средства и для укрепления органов дыхания. АК является важным водорастворимым витамином, в том числе обусловливающее лечебные свойства хвои, и поэтому количество АК в ней служит одним из критериев для оценки качества ее лечебных и профилактических свойств.

Целью нашей работы была оценка характера влияния экологической обстановки на содержание витамина «С» (аскорбиновой кислоты) в хвое ели во время ее сбора и после хранения.

Для выполнения исследований были поставлены **задачи:**

1. Изучить экологическую обстановку места сбора хвои ели;
2. Провести количественный анализ на содержание витамина «С» в хвое ели из разных мест сбора поселка Костино;
3. Повторить количественный анализ на содержание АК в хвое через 6 месяцев хранения;
4. Выполнить математическую обработку полученных результатов количественного анализа;
5. Сделать выводы и дать рекомендации

Физико-географическая и социальная характеристика исследуемой территории

Поселок Костино является административной единицей города Кирова и располагается в 12 км от него в северо-западном направлении (7 км от проспекта Строителей) (см. Приложение 1)

На климат города Кирова и поселка Костино влияют воздушные массы, которые приносятся циклонами и антициклонами с севера (арктический воздух), с запада и востока (умеренный континентальный). Зима продолжительная, многоснежная и холодная, а лето умеренно-теплое и короткое. Погода по температуре и осадкам, в основном, неустойчивая.

Среднее количество осадков в год – 600 – 650 мм. Преобладающими являются ветра северо-западного и юго-западного направлений.

Исследуемая территория является равнинной местностью, пересеченная малыми реками и искусственными прудами.

Численность населения поселка Костино составляет 3,5 тыс. человек. Наблюдается рост заболеваемости взрослого и детского населения астмой, аллергией, сердечно-сосудистыми болезнями и заболеваниями опорно-двигательного аппарата.

На исследуемой территории основными загрязнителями окружающей среды являются ПТФ «Костинская», полигон ТБО города Кирова, животноводческие комплексы.

Характеристика территорий сбора хвои

Кировский полигон ТБО существует с 1972 года, расположен примерно в 1,5 км от центра поселка и школы № 5. Свалка возникла стихийно, без проекта и соответствующей экологической экспертизы. Лишь не так давно она приобрела статус полигона ТБО. Почва болотно-торфяная, поэтому фильтрация ЗВ в почву и воду велика. Еще в 90-е годы свалка была выработана на150 % . Южная часть поселка защищена от полигона ТБО хвойным лесом, а остальная его часть соседствует с полями, то есть открытой территорией. Площадь полигона занимает несколько десятков га и увеличивается с каждым годом. Для расширения территории полигона вырублены большие площади леса, который защищал близлежащие населенные пункты от вредного влияния городской свалки. Вся территория свалки очень токсична по запаху, содержанию в воде и почве органических и неорганических веществ, в том числе, тяжелых металлов (см. Приложение 2).

С 2007 года введена в эксплуатацию печь по сжиганию медицинских отходов, которая действует на территории полигона ТБО. При несоблюдении технологии сжигания в воздух могут выбрасываться диоксины, которые являются сильнейшими ядами

Лес за школой – рекреационная зона поселка Костино, это та защитная полоса, что отделяет полигон от нашего взора и служит местом отдыха местного населения. Лес, в основном, елово-сосновый с преобладанием ели.

Птицефабрика «Костинская» находится примерно на расстоянии 0,5 км от пос. Костино. ПТФ выбрасывает в воздух такие токсичные вещества как аммиак, сероводород, альдегиды, ацетон, фенолы, оксиды углерода, сернистый газ, сажу, бенз(а)пирен и др.

Автотрасса «Московский тракт» (остановка «Школа») проходит вдоль северной окраины поселка Костино. Дорога прямолинейная, без подъемов и спусков. По сторонам трассы лишь небольшие островки смешанного леса. Наблюдения за увеличением автотранспортной нагрузки велись в течение 11 лет. За это время число проезжающих в час автомобилей увеличилось в 7, 4 раза. Имеется вероятность загрязнения воздуха, почвы и грунтовых вод продуктами сгорания автомобильного топлива (оксидами углерода, соединениями свинца и даже диоксинами).

Материалы и методы исследования

Из свежесобранной хвои, приблизительно одинаковой по размеру, брали три навески.

Определение содержания АК проводили в свежесобранной хвое и после ее 6-месячного хранения в одинаковых условиях: при комнатной температуре. Расчет содержания аскорбиновой кислоты определяли в мг на 100 г сырой массы, используя метод Тильманса.

Количественное определение витамина «С» (аскорбиновой кислоты) в хвое ели по методу Тильманса

Принцип метода:

Метод основан на способности аскорбиновой кислоты восстанавливать 2, 6 – дихлорфенолиндофенол, который в кислой среде имеет красную окраску, при восстановлении обесцвечивается, а в щелочной среде имеет синюю окраску. Для предохранения витамина «С» от

разрушения, фильтрат хвои титруют в кислой среде щелочным 2, 6 – дихлорфенолиндофенолом до появления розового окрашивания.

По данной методике можно определять содержание аскорбиновой кислоты в хвое, капусте, шиповнике.

Подготовка фильтрата хвои:

1. Приготовить навеску хвои массой 1 г.
2. Поместить навеску в ступку с пестиком.
3. Отмерить мерным цилиндром 2 мл 10%-ного раствора соляной кислоты (HCl) и прилить к хвое.
4. Растереть смесь в ступке пестиком.
5. Добавить к полученной смеси 8 мл дистиллированной воды.
6. Приготовить фильтр и профильтровать смесь по стеклянной палочке. (Чтобы фильтр плотно прилегал к стенкам воронки, его нужно осторожно смочить водой на стеклянной палочке).

Титрование:

1. Отмерить мерным цилиндром 2 мл фильтрата хвои.
2. Добавить к нему 10 капель 10%-ного раствора соляной кислоты (HCl)
3. Титровать полученный фильтрат 0,001 Н раствором 2, 6 – дихлорфенолиндофенола до розовой окраски, сохраняющейся в течение 30 с.
4. Вычислить содержание витамина «С» в 100 г хвои по формуле:

Математическая обработка результатов

$$X = \frac{0,088 * A * Г * 100}{Б * В},$$ где

Х – содержание аскорбиновой кислоты в мг на 100 г продукта;

0, 088 – содержание витамина «С» в мг (1мл 0,001 Н раствора 2, 6 – дихлорфенолиндофенола соответствует 0, 088 мг аскорбиновой кислоты, молярная масса аскорбиновой кислоты – 178, а грамм-эквивалент ее – 88);

А – результат титрования 0, 001 Н раствором 2, 6 – дихлорфенолиндофенола в мл;

Б – объем экстракта, взятого для титрования (2 мл);

В – масса хвои, взятой для анализа (1 г);

Г – общее количество экстракта (10 мл)

100 – перерасчет на 100 г хвои.

Полученный результат Х умножается на 5, так как для титрования из общего количества экстракта (10 мл), брали только 2 мл, что в 5 раз меньше.

В 100 г хвои содержание аскорбиновой кислоты должно быть 200 – 400 мг.

Результаты исследований и сравнение содержания АК в свежей хвое и после ее хранения представлены в приложении 3 (табл. 1 и рис. 1).

Выводы

1. Установлено достоверное снижение содержания АК в хвое местности с неблагоприятной экологической обстановкой. Наибольшее содержание витамина «С» наблюдалось в свежей хвое ели, а также после ее хранения в точке сбора №1 («Лес за школой»). Следовательно, в рекреационной зоне поселка экологическая обстановка наиболее благоприятная.

На участке № 2 (ост. «Школа» - московский тракт) наблюдалось снижение содержания витамина «С» в свежей хвое в 1,4 раза по сравнению с контрольным участком №1 («Лес за школой»). Вероятно, это связано с интенсивным движением автотранспорта и выбросом выхлопных газов.

2. Наиболее экологически неблагоприятными оказались микрорайоны в непосредственной близости от городского полигона ТБО (участок №3) и ПТФ «Костинской» (участок № 4). Содержание АК в свежей хвое снижено по сравнению с участком № 1 соответственно в 2,8 раза и в 4,4 раза (см. Приложение 3)

3. При хранении хвои в течение полугода количество АК равномерно уменьшается в среднем от 6 до 9 раз. Равномерное снижение содержания АК в хвое при хранении свидетельствует о том, что неблагоприятные факторы хранения нарушают процессы синтеза этого витамина в растительных клетках. Можно предположить, что при этом происходит процесс ингибирования ферментов, отвечающих за синтез АК и снижение

их активности. Данное предположение подтверждается результатами, изложенными в первом выводе.

Рекомендации

- Количественный анализ содержания АК в хвое может служить показателем экологической обстановки местности.
- Свежую хвою ели и незрелые шишки можно использовать в качестве сырья для заваривания витаминного и лечебного чая. Такой чай будет служить противомикробным средством, а также профилактикой заболевания десен.

Приложение 1

Карта «Пригород г. Кирова»

Приложение 2

Фото «Полигон твердых бытовых отходов г. Кирова в окрестностях п. Костино»

Приложение 3

Таблица 1. Содержание аскорбиновой кислоты в хвое в зависимости от места произрастания и срока хранения в мг / 100 г (X±S x)

№ участка	Место сбора хвои	Сразу после сбора	Через 6 месяцев хранения
1	Лес за школой № 5 n = 3	264,0±24,3	27,6±4,9
2	Автотрасса «Московский тракт», ост. «Школа» n = 3	184,8±19,6	20,3±3,4
3	Полигон ТБО n = 3	94,6±6,8	14,4±1,2
4	Территория птицефабрики «Костинская» n = 3	59,4±3,9	10,1±0,8

*Различия статистически достоверны

Приложение 3

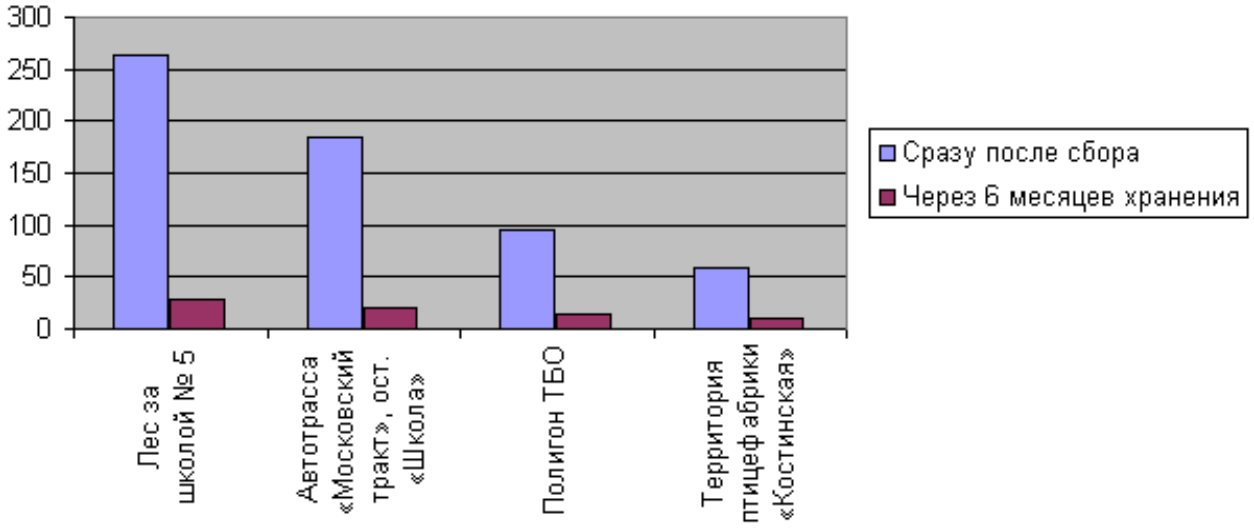

Рис. 1 Содержание аскорбиновой кислоты в хвое
в зависимости от места произрастания и срока хранения

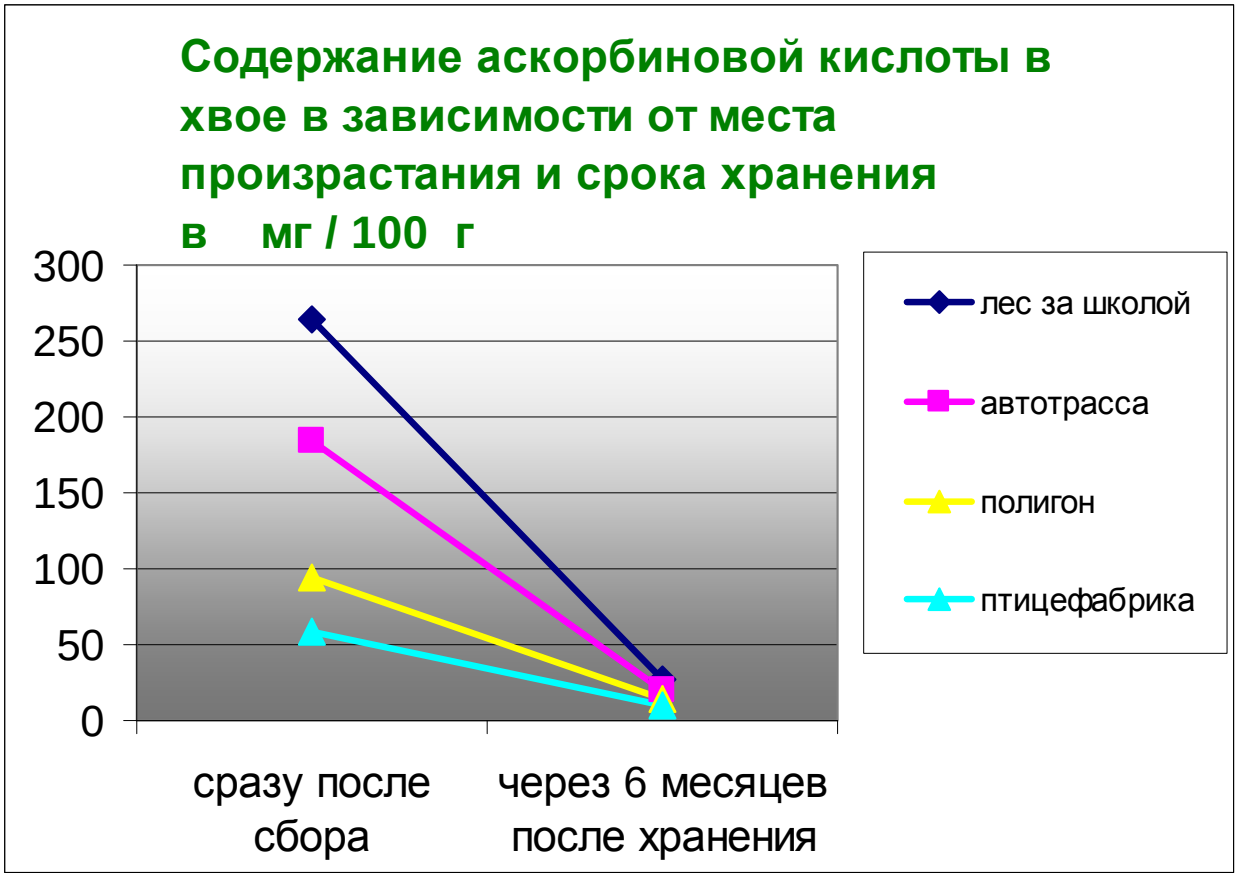

Рисунок 2

Список литературы

1. Березов Т.Т., Коровкин Б.Ф. Биологическая химия: Учебник. – 3-е изд., перераб., и доп. – М.: Медицина, 2007. – 704 с.: ил.
2. Большой энциклопедический словарь, М., «Большая российская энциклопедия», 1998
3. Биологическая химия. Кировская государственная медицинская академия, кафедра медицинской химии, ч. 1, 2000
4. Бышевский А.Ш., Терсенов О.А. Биохимия для врача. – Екатеринбург.: Уральский рабочий. – 1994. – 380с.
5. Винокурова Н. Ф., Трушин В. В.. Глобальная экология, учебник для 10-11 классов, проф. школа – М. «Просвещение», 1998.
6. Гринстейн Б., Гринстейн А. Наглядная биохимия: Пер. с англ. – М.: ГЭОТАР Медицина, 2000. – 119 с. – («Экзамен на отлично»).
7. Зайчик А.Ш., Чурилов Л.П. Основы патохимии. – СПб., 2001. – ЭЛБИ-СПб, 688 с., илл.
8. Камышников В.С. О чем говорят медицинские анализы. – Минск.: Беларуская навука. - 1997. - 197с.
9. Камышников В.С. Клинико-биохимическая лабораторная диагностика: Справочник: В 2 т. - 2-е изд. – Мн.: Интерпрессервис, 2003. – 958 с.: ил.
10. Клиническая биохимия / Под ред. В.А. Ткачука. – М.: ГЭОТАР-МЕД, 2002. – 360 с. – (Серия XXI век).
11. Лекарственные растения Кировской области, «Волго-вятское книжное издательство», 1984
12. Лифшиц В.М., Сидельникова В.И. Биохимические анализы в клинике: Справочник. – М., МИА, 1998. – 303 с.
13. Марри Р., Греннер Д., Мейес П., Родуэлл В. Биохимия человека. – М.: Мир. - 1993. – В 2 томах.
14. Маршалл В. Дж. Клиническая биохимия /Пер. с англ. – М. – СПб.: «Издательство Бином» - «Невский Диалект», 1999. – 368 с., ил.
15. Номенклатура ферментов. Пер. с англ. – М.: Высш. Школа. – 1989. - 496с.
16. Словарь химических терминов, М., «Просвещение», 1999
17. Справочник биохимика /Донсон Р., Элиот У., Джонс К. – Пер. с англ. – М.: Мир, 1991. – 544 с.
18. Энциклопедия клинических лабораторных тестов /Под ред. Н. Тица. – Пер. англ. – М.: Лабинформ, 1997. – 960 с.