

Национальный исследовательский университет
«Высшая Школа Экономики»

Лицей

Индивидуальная выпускная работа
**“Изменение содержания витамина С в ягодах клюквы при
холодильном хранении”**

Выполнила Бесхижко Маргарита Сергеевна

Москва
2022

Оглавление

Введение	4
1. Химическое строение и свойства аскорбиновой кислоты.....	5
1.2 Роль витамина С в метаболизме человека и животных.....	5
1.3 Физиологическая потребность в витамине С	7
2. Витаминные свойства плодов клюквы	8
3. Метод титриметрического анализа.....	9
3.1 Определение концентрации витамина С	10
4. Практическая часть.....	11
4.1 Подготовка материала для исследования.....	11
4.2 Титрование	13
4.3 Расчёты	15
5. Выводы и заключение	15

Тема: Изменение содержания витамина С в ягодах клюквы при холодильном хранении.

Цель исследования: исследовать, как изменяется концентрация витамина С в ягодах клюквы при разных способах холодильного хранения ягод и выявить те из них, которые способствуют лучшему его сохранению в плодах.

Материал: ягоды клюквы

Методы:

- 1) Эксперимент
- 2) Сравнительный анализ

Задачи:

- 1) Подобрать подходящий сорт ягод для исследования
- 2) Подготовить образцы для исследования, а именно: обработать равные порции ягод разными способами (заморозить ягоды без добавок, заморозить ягоды в сахарной пудре (5% от массы), заморозить ягоды в сахарном сиропе (45%), охладить ягоды в сахарном сиропе (25%)
- 3) Провести эксперимент по титрованию подготовленных образцов
- 4) Провести сравнительный анализ полученных результатов с целью выявить способ обработки ягод, при котором потери витамина С минимальны.

Гипотеза: при охлаждении ягод клюквы в сахарном сиропе (25%) изменение концентрации витамина С клюкве будет минимально.

Введение

Витамины – это низкомолекулярные органические соединения, которые необходимы для правильной работы организма человека помимо белков, жиров и углеводов. Витамины участвуют в большинстве жизненных процессов. Также они входят в состав более 100 ферментов. Благодаря этому витамины имеют способность катализировать некоторые реакции в организме. Велика роль витаминов в поддержании устойчивости иммунитета человека к болезням.¹

Витамин С является одним из таких веществ. В 20 веке учёными из разных стран была доказана его эффективность против цинготных заболеваний. Позднее стало известно о других его функциях в организме человека.

Потребность в потреблении достаточного количества витамина С привела к множеству исследований по количественному измерению содержания витамина С в разных продуктах. Большинство из них подразумевают нахождение концентрации витамина С в свежих плодах. Однако люди часто потребляют продукты в обработанном виде. Вследствие этого немаловажным является исследование о том, как меняется содержание витамина С в продуктах при их обработке. А также какие факторы влияют на данный показатель.

В данной работе объектом исследования динамики изменения содержания витамина С выступает клюква. Данная ягода является одним из распространённых источников витамина С для человека. Также она обладает другими нужными организму человека полезными веществами. В связи с этим, возможность сохранения её полезных свойств на долгое время является важным для человека.

¹ Прозоровский В. Витамин С. Как его понимать? // Наука и жизнь. 2007. №8

1. Химическое строение и свойства аскорбиновой кислоты

L - аскорбиновая кислота или витамин С представляет собой белое кристаллическое соединение, которое легко растворимо в воде. Оно чувствительно к окислению и тепловому воздействию.

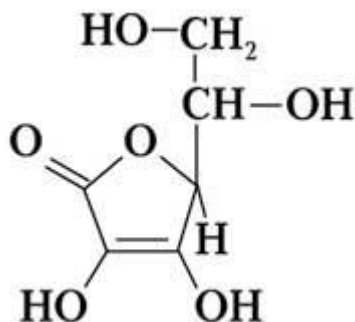


Рисунок 1 – Формула аскорбиновой кислоты

На рисунке 1 видно, что аскорбиновая кислота является ненасыщенным соединением и не содержит свободной карбоксильной группы. Кислый характер этого соединения обусловлен наличием двух фенольных гидроксильных групп, способных к диссоциации с отщеплением водородных ионов в основном у третьего углеродного атома.

Вследствие своего строения аскорбиновая кислота имеет 4 оптических изомера: D-, L- аскорбиновые кислоты и D-, L- изоаскорбиновые кислоты. Природная L- аскорбиновая кислота входит в состав живых организмов и является витамином. D-аскорбиновая кислота же является антивитамином. D-аскорбиновая кислота, D-изоаскорбиновая кислота и L-изоаскорбиновая кислота не содержатся в живых организмах и могут быть получены только искусственным путём.[1]

1.2 Роль витамина С в метаболизме человека и животных

L-аскорбиновая кислота является витамином для человека, обезьян и некоторых других представителей теплокровных, а именно: для морской свинки, фруктовой летучей мыши и индийского красного воробья. Остальные животные

не нуждаются в его пополнении из пищи и обладают способностью к его биосинтезу. [1]

Основными функциями витамина С являются:

- Антиоксидантная функция. В клетках организма в результате избыточного воздействия ультрафиолетового излучения, радиации и тд. могут образовываться сначала одиночные активированные атомы – радикалы, а затем и их цепочки. Разветвление этих цепочек атомов в дальнейшем приводит к образованию большего количества радикалов. Вследствие чего в организме накапливается множество радикалов, способных к окислению липидов мембран клеток внутренних органов. Аскорбиновая кислота в данном случае предохраняет их от окисления. Кроме того, витамин С обеспечивает прямую защиту белков, ДНК и РНК клеток от повреждающего действия свободных радикалов, которые часто образуются в клетках в процессе жизнедеятельности. [6]

- Функция участника в образовании гемоглобина. Аскорбиновая кислота в реакции с железом забирает на себя электроны. Благодаря этому облегчается всасывание железа в крови. Ускоряется образование гемоглобина.

- Функция антиканцерогена. Аскорбат – соль аскорбиновой кислоты имеет свойство предотвращать нитрозаминный канцерогенез путём реакции с канцерогенами, которые образуются из аминосоединений пищи в кислой среде желудка.

- Функция участника синтеза коллагена. Коллаген является структурным белком, необходимым для обеспечения прочности тканей организма. В синтезе коллагена аскорбиновая кислота участвует в стадии гидроксилирования остатков лизина и пролина.

- Синтез нейромедиаторов, таких как норадреналин, серотонин, а также желчных кислот из холестерина.

- Влияние на обмен других витаминов и микронутриентов. [2]

1.3 Физиологическая потребность в витамине С

Витамин С является одним из витаминов, потребность в которых часто полностью не восполняется с пищей. Это происходит из-за того, что – аскорбиновая кислота легко разрушается при тепловой обработке продукта. Также она плохо сохраняется при долгом хранении овощей и фруктов.

Особенный недостаток в витамине С испытывают люди северных районов. Их рацион во многом состоит из привозных продуктов питания или консервированных блюд. Недостаток витамина С в организме проявляется в виде потери аппетита, быстрой утомляемости, раздражительности, склонности к инфекционным заболеваниям и т. д. [1]

Потребление достаточного количества продуктов, богатых этим витамином, соответствует физиологическим потребностям здорового организма. Нормы суточной дозы витамина С указаны ниже на таблице 1. [5]

Таблица 1 - Суточная доза витамина С для разных групп людей

Категория населения	Суточная доза витамина С, мг в день
Младенцы	35
Дети	45
Подростки	50
Взрослые	60
Беременные	80
Кормящие матери	100
Старики	150

Аскорбиновая кислота встречается в животных и растительных тканях как в свободной, так и в окисленной форме (дегидро-L-аскорбиновая кислота). Обе эти кислоты обладают одинаковой витаминной активностью. В мышцах содержится 50% дегидро-L-аскорбиновой кислоты от общего объёма кислоты. В печени же содержится 27% дегидро-L-аскорбиновой кислоты. Наибольшее содержание L-аскорбиновой кислоты наблюдается в растениях. Её содержание в них достигает 70%. [1] Поэтому главным источником витамина С для человека

и животных являются растения. Среди них наибольшим содержанием витамина С обладают:

- Плоды шиповника
- Чёрная смородина
- Капуста кочанная
- Зелёный перец
- Хрен и т.д. [5]

Клюква также содержит большое количество витамина С в составе. [8] Она является одной из наиболее популярных ягод, используемых человеком для восполнения витамина С и других немаловажных элементов в организме. Поэтому существует потребность в исследовании способов хранения данных ягод, которые бы минимизировали потери витамина С.

2. Витаминные свойства плодов клюквы

Растение клюквы является вечнозелёным стелющимся кустарником. Оно относится к семейству вересковых. В плодах данного растения содержатся некоторые витамины группы В, такие как: витамин В1, В2, В3, В6, В9. Также ягоды клюквы имеют в своём составе витамин С, Р-активные полифенолы, витамин К1 и бета-каротин. Среди макроэлементов, входящих в состав ягод преобладают азот, калий и фосфор. Среди микроэлементов преобладают марганец, железо, кобальт и др.

Плоды клюквы могут быть использованы при лечении и профилактике некоторых болезней. Препараты, полученные на основе ягод, обладают капилляроукрепляющим, противовоспалительным, антирадиантным, антицинготным, противоатеросклеротическим и ранозаживляющим действием. [8]

В результате исследования, проведённого А.Б. Горбуновым и Т.А. Кукушкиной в 2019 году [9] об изменении химического состава ягод клюквы крупноплодной, получены результаты о том, что в процессе хранения ягод

клюквы при температуре 2-4 градуса Цельсия в течении 7 месяцев, содержание витамина С в ягодах уменьшилось в 1,5-2 раза. При изучении других исследований на эту тему, также было замечено о постепенном изменении концентрации витамина С в продукте при длительном хранении.

В исследовании, проведенном Базарновой Ю. Г. и Лысенко И. В. в 2015 [10] об аспектах холодильного консервирования дикорастущих ягод было выявлено, что при замораживании ягод клюквы в глюкозном сиропе или сахарной пудре количество витамина С в ягодах уменьшается с меньшей скоростью. В связи с этим, задачей данного исследования является - понять какие из распространённых способов консервирования ягод клюквы являются наиболее действенными для сохранения витамина С в их составе.

На основе работы Ермакова А. И., Арасимовича В. В., Смирновой-Иконниковой М. И., Яроша Н. П., Луковниковой Г. А. “Методы биохимического исследования растений” [11] исследование будет проводиться на измельчённых пробах плодов клюквы. Для расчёта количественного содержания витамина С взят метод титриметрического анализа.

3. Метод титриметрического анализа

Титриметрический анализ - метод количественного исследования вещества, основанный на измерении объёма реагента, необходимого для реакции с определяемым компонентом.

Процесс титрования заключается в постепенном добавлении титранта² к определяемому веществу. После добавления каждой порции титранта в растворе устанавливается равновесие реакции титрования. Экспериментально момент окончания титрования устанавливают по изменению цвета индикатора или какого-либо физико-химического свойства раствора. [3]

В титриметрическом анализе могут быть использованы реакции всех типов, а именно: с переносом протона, электрона, электронной пары; а также процессы

² Титрант – раствор с точно известной концентрацией, который приливают к исследуемому веществу.

осаждения. В связи с этим, по типам реакции методы титриметрии разделяются на:

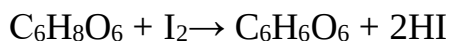
- Кислотно-основное титрование;
- Окислительно-восстановительное титрование;
- Комплексометрическое титрование;
- Осадительное титрование. [4]

3.1 Определение концентрации витамина С

В данном исследовании используется окислительно-восстановительное титрование. Оно основано на взаимодействии стандартного раствора окислителя или восстановителя с определяемым веществом.

Для аскорбиновой кислоты характерны сильные восстановительные свойства. Она может быть окислена такими веществами как: кислород, нитраты, йод и др. Поэтому в данном случае она выступает в роли восстановителя.

Часто для обнаружения количества кислоты в роли титранта выступает щёлочь. В данном случае она не может быть использована. В клюкве помимо аскорбиновой кислоты содержатся также и другие органические кислоты. При их реакции с щёлочью итоги реакции были бы некорректны. Однако аскорбиновая кислота имеет способность быстро реагировать с йодом. Поэтому в реакции в роли титранта будет выступать йод. Уравнение реакции аскорбиновой кислоты с йодом приведено ниже:



В случае если титруемое вещество не имеет собственной окраски, конечная точка титрования определяется по изменению цвета раствора до жёлтого-коричневого. Это окраска йода. Она появляется в результате того, что вся аскорбиновая кислота вступила реакцию. Йод больше не может реагировать с ней и обесцвечиваться.

Однако в данной работе исследуемый раствор уже является окрашенным. В таком случае конечная точка титрования определяется по изменению цвета индикатора. В роли индикатора был выбран раствор крахмала.

После окончания реакции йода с аскорбиновой кислотой, оставшийся йод начинает реагировать с крахмалом. Так, конечную точку титрования раствором йода фиксируют по появлению синей окраски комплекса йода с крахмалом. [7]

4. Практическая часть

4.1 Подготовка материала для исследования

В работе Бочарова Б.А. и Бых Г.М. “Технологические аспекты замораживания ягод клюквы” показана возможность сохранения витамина С с созданием оптимальной осмотически деятельной среды обработки ягод. Эффективность данного метода зависит от характеристик используемой среды. В работе были рассмотрены: способ обработки ягод клюквы в сахарной пудре с содержанием 10% от общей массы плодов и способ обработки ягод с применением насыщенного сахарного сиропа (40%).

Результаты исследования показали, что сахарная пудра способствует сохранению тургора ягод. В данном случае после дефростации сок из ягод вытекает в меньшем количестве. Это способствует меньшему окислению витамина С.

Сахарный сироп является менее эффективной средой для сохранения витамина С в ягодах. Из-за высокого содержания глюкозы в соке, диффузионный процесс в ягодах начинается значительно раньше. Вследствие чего после размораживания большой объём сока переходит в сахарный сироп. Это приводит к значительному снижению содержания витамина С в соке.

В исследовании Базарновой Ю.Г. И Лысенко И.В. рассмотрен способ консервирования ягод клюквы в изотонических сиропах с содержанием сахарозы от 25% до 40%. Способ заключается в пастеризации и холодильном хранении

ягод в изотонических сиропах. Концентрация смеси подобрана с учётом осмотической концентрации растворённых веществ в соке ягод клюквы. Эффективность метода заключается в создании осмотического равновесия между соком ягод и средой, в которой он находится.

Результаты исследования показали, что холодильное хранение клюквы обеспечивает лучшее сохранение целостности клеток ягод, чем замораживание. Это связано с влиянием кристаллов льда на органоиды клеток.

Также результаты показали, что использование раствора сахарозы с концентрацией больше 25% оказывает негативное влияние на протекание метаболических процессов в ягодах. Концентрация раствора 25% является оптимальной.

В соответствии полученными результатами, в данном исследовании изменение содержания витамина С рассматривается на таких способах обработки ягод клюквы как:

- Заморозка без добавок
- Заморозка в сахарной пудре (5% от массы плодов). Процент содержания сахарной пудры подобран таким образом, чтобы она могла образовывать тонкий слой на поверхности ягод
- Заморозка в сахарном сиропе (45%)
- Охлаждение в сахарном сиропе (25%)

Замороженные пробы хранились при температуре (-18 град).

Охлаждённая проба хранилась при температуре (+4 град).

Исследование всех проб проводилось после 14 дней хранения.

В исследовании были использованы ягоды дикой клюквы (семейство *Vacciniaceae*)

4.2 Титрование

Титрование проводилось на пробах, измельчённых вместе с мякотью и кожурой в ступке. Полученная масса была пропущена через марлю. Для анализа 1 мл сока разводился в 10 раз.

Индикатор – крахмал был получен путём заваривания нескольких грамм крахмала в 150 мл воды до образования однородного полупрозрачного крахмального клейстера. Нагревание данного раствора позволяет добиться большей прозрачности и стабильности жидкости. Благодаря этому в процессе титрования крахмал не скапливается на дне пробирки. Он распределён равномерно по всему объёму жидкости.

Титрантом в исследовании выступает раствор йода с концентрацией 0,005 М. Изготовление раствора заключается в растворении 1 мл 5% йодной настойки йода в 39 мл воды.

Раствор титранта в данном исследовании не стандартизировался. Вследствие этого его известная концентрация не является точной. Однако все пробы были протитрованы одним раствором, что позволяет сравнивать их между собой.

Титрование проб проводилось до появления устойчивого изменения в окраске раствора, не исчезающего 20 секунд. Расчёт израсходованного титранта проводился в мл, затраченных на титрование пробы.

Таблица 2 - Объем йода, пошедший на титрование проб сока (мл)

№ титрования	Клюква свежая	Клюква, заморож. в сахарной пудре (5% от массы)	Клюква, заморож. в сахарном сиропе (45%)	Клюква, охлаждён. в сахарном сиропе (25%)	Клюква, заморож. без добавок
1	0,77	0,59	0,44	0,32	0,42
2	0,75	0,55	0,44	0,34	0,42
3	0,74	0,56	0,42	0,32	0,40
4	0,74	0,57	0,46	0,31	0,41
5	0,75	0,55	0,45	0,32	0,41
6	0,76	0,58	0,43	0,34	0,42
7	0,75	0,55	0,44	0,33	0,43
8	0,75	0,56	0,45	0,34	0,42
Среднее значение	0,75	0,56	0,44	0,32	0,41

Таблица 3 - Стандартное отклонение

	Клюква свежая	Клюква, заморожен. в сахарной пудре (5% от массы)	Клюква, заморожен. в сахарном сиропе (45%)	Клюква, охлаждён. в сахарном сиропе (25%)	Клюква, заморож. без добавок
Стандартное отклонение	0,014142	0,021213	0,007071	0,014142	0

Для расчёта количественного содержания витамина С в соке также было проведено титрование аскорбиновой кислоты известной концентрации. Это позволяет вычислить объём раствора йода, необходимого на титрование определённого количества аскорбиновой кислоты.

4.3 Расчёты

Вычисление содержания витамина С в пробе сока проводилось с помощью пропорции:

$$\frac{0,5}{c_1} = \frac{1,7}{v_1(I_2)}$$

где 1,7 – объём йода необходимый на титрование 0,5 мг аскорбиновой кислоты,

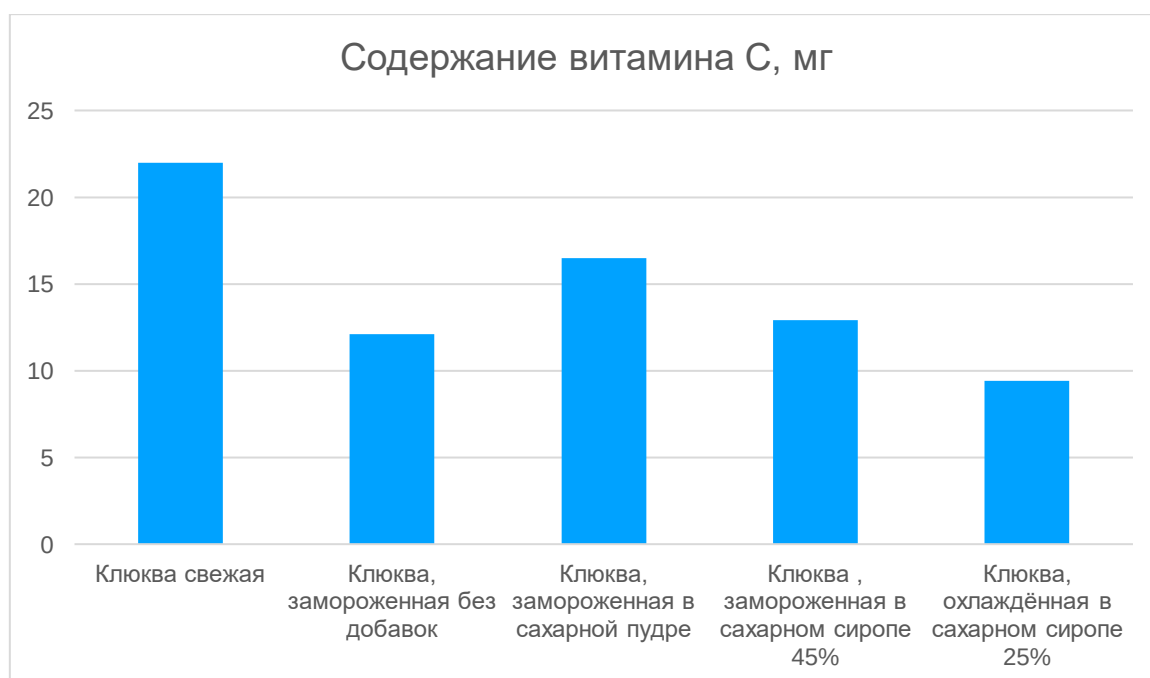
C1 – количество витамина С в пробе сока (мг),

V1 – объём йода, пошедший на титрование пробы.

Таблица 4 - Концентрация витамина С в 100 г сока (мг)

	Клюква свежая	Клюква, заморожен. в сахарной пудре (5% от массы)	Клюква, заморожен. в сахарном сиропо (45%)	Клюква, охлаждён. в сахарном сиропо (25%)	Клюква, заморожен. без добавок
Концентра ция вит. С на 100 гр (мг)	22	16,5	12,9	9,4	12,1

5. Выводы и заключение



На графике видно, что охлаждение клюквы в сахарном сиропе (25%) является наименее эффективным способом обработки ягод. Следовательно гипотеза не подтвердилась.

Такой результат мог быть получен в связи с тем, что в данном исследовании в целях приближения к бытовым условиям, состав изотонического сиропа был упрощён. В него входила только сахароза (25%). Из-за изменения состава сиропа концентрация растворённых веществ в растворе могла быть недостаточной для установки равновесия между средами. Произошла потеря растворимых веществ в результате их экстрагирования в жидкую фазу.

При дальнейших подобных исследованиях, в целях получения достоверного результата рекомендуется изготовление изотонического раствора, который точно бы подходил по характеристикам для консервируемого продукта.

Также была отмечена эффективность использования сахарной пудры для консервирования ягод. Её положительное действие может быть основано на создании осмотического барьера, который образуется на поверхности ягод. Он замедляет окисление витамина. Кроме того, в ягодах образуется меньше клеток, подвергнутых плазмолизу.³ Благодаря чему из ягод вытекает меньше сока. Витамин С теряется тоже меньше.⁴

Следует отметить, что в данной работе ягоды замораживались в сахарной пудре (5%) от массы продукта. Это количество меньше использованного в исследовании Бочарова Б.А. и Бых Г.М. где объём сахарной пудры составлял 10% от массы плодов. Однако это не повлияло на результат исследования.

В связи с этим можно выдвинуть предположение, что процентная доля сахарной пудры при консервировании не имеет значения в случае, если выполняется необходимое условие о создании осмотического барьера на поверхности ягод. Данная гипотеза может стать основой для дальнейшего исследования.

³ Плазмолиз – отделение протопласта от клеточной стенки в гипертоническом растворе

⁴ Бочаров В. А., Бых Г. М. Технологические аспекты замораживания ягод клюквы // Международный научный журнал “Символ науки”. 2016. № 3. С. 35-37.

После замораживания клюквы в сахарном сиропе (45%) витамин С сохранился лучше, чем при охлаждении ягод в сиропе (25%). Данный результат может быть получен в случае, если концентрация растворённых веществ в насыщенном сиропе оказалась ближе к этому значению в клетках ягод. Однако, возможно, при проведении подобного исследования с применением более точного технологий, может быть получен другой результат.

6. Список литературы:

- 1) Березовский В. М. Химия витаминов. Изд. 2-е, М.: Пищевая промышленность, 1973.
- 2) Докучаева Е. А., Сяхович В. Э., Богданова Н. В. Витамины: практикум // Общая биохимия: Витамины / под ред. С. Б. Бокутя. – Минск: ИВЦ Минфина, 2017. – 52 с.
- 3) Основы аналитической химии. В 2 т. Т. 1: учеб. для студ. учреждений высш. проф. образования / [Т. А. Большова и др.]; под ред. Ю. А. Золотова. - 5-е изд., стер. — М.: Издательский центр «Академия», 2012.
- 4) Чупахина Г. Н., Масленников П. В. Методы анализа витаминов: Практикум. Калининград: Изд-во КГУ, 2004.
- 5) Девис М., Остин Дж., Патридж Д. Витамин С: Химия и биохимия: Пер. с англ. – М., Мир, 1999 – 96, 118 с.
- 6) Витамин С // ФБУЗ « Центр гигиенического образования населения» Роспотребнадзора [Электронный ресурс] Режим доступа: <http://cgon.rospotrebnadzor.ru/content/62/1914> (дата обращения 20.04.2022).
- 7) Подкорытов, А. Л.; Неудачина, Л. К.; Штин, С. А. / ОКИСЛИТЕЛЬНО-ВОССТАНОВИТЕЛЬНОЕ ТИТРОВАНИЕ: учебное пособие. Екатеринбург: Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего профессионального образования "Уральский федеральный университет им. первого Президента России Б.Н. Ельцина", 2015. 64 стр.
- 8) Лютикова М. Н., Ботиров Э. Х. Химический состав и практическое применение ягод брусники и клюквы // Химия растительного сырья. 2015. №2. С. 5-27.
- 9) Горбунов А. Б., Кукушкина Т. А. Изменение химического состава ягод клюквы крупноплодной в процессе хранения // Химия растительного сырья. 2019. №3. С 153-159.

- 10) Базарнова Ю. Г., Лысенко И. В. Технологические и биохимические аспекты холодильного консервирования дикорастущих лесных ягод // Вестник Новгородского государственного университета. 2015. №86. С. 23-25.
- 11) Ермаков А. И., Арасимович В. В., Смирнова-Иконникова М. И., Ярош Н. П., Луковникова Г. А. Методы биохимического исследования растений. Изд. 2-е, Л.: “Колос”, Ленинградское отделение, 1972 – С. 88-92