



OSNOVNA ŠOLA ŽIRI

A GREMO NA LUNO?

Kemija
raziskovalna naloga

Avtorici:

Ula MUR
Sara PODLESEK

Mentorici:

Lilijana JUSTIN, PRU kemije
Petric NOVAK, prof. slovenščine

Žiri, 2024

I KAZALO VSEBINE

Povzetek	1
Zahvala	1
1 UVOD.....	2
2 TEORETIČNI DEL.....	3
2.1 LIOLIFIZACIJA	3
2.1.1 Zamrzovanje.....	3
2.1.2 Primarno sušenje	3
2.1.3 Sekundarno sušenje.....	4
2.1.4 Sublimacija.....	4
2.2 VODA V ŽIVILIH	4
2.2.1 Na splošno	4
2.2.2 Kako jo merimo?	5
2.2.3 Jajca.....	5
2.2.4 Borovnice	6
2.2.5 Por	6
2.2.6 Masa vode v živilu	7
2.2.7 Vsebnost vode.....	7
2.3 BARVILA	7
2.3.1 Barvila v borovnicah	8
2.3.2 Barvila v poru	8
2.3.3 Barvila v jajcih	8
2.4 KEMIJSKA SESTAVA.....	9
2.4.1 Sestava borovnic.....	9
2.4.2 Sestava pora	9
2.4.3 Sestava jajc.....	9
3 RAZISKOVALNI DEL	11
3.1 POSKUS LIOFILIZACIJE	11
3.2 METODOLOGIJA	12
3.2.1 Jodimetrična titracija.....	12
3.2.1.1 Določanje vitamina C v liofiliziranih borovnicah	13
3.2.1.2 Določanje vitamina c v svežih borovnicah	13
3.2.1.3 Standardizacija raztopine jodovice	14
3.2.1.4 Določanje vitamina c v liofiliziranem poru	14

3.2.1.5 Določanje vitamina c v svežem poru	14
3.2.2 Jodometrična titracija.....	15
3.2.3 Tekočinska kromatografija na Fakulteti za kemijo in kemijsko tehnologijo	17
3.2.3.1 Opis vzorca raziskave	17
3.2.3.2 Opis merskih instrumentov.....	17
3.2.3.3 Opis postopka zbiranja podatkov	19
Standardizacija askorbinske kisline (vitamin C).....	21
3.2.3.3 Analiza pripravljenih vzorcev.....	22
3.3 REZULTATI	22
3.3.1 Jodimetrična titracija.....	22
3.3.2 Jodometrična titracija.....	23
3.3.3 Kromatografija standardov.....	24
3.3.4 Kromatografija živil	24
3.4 PREIZKUŠANJE STRUKTURE LIOFILIZIRANIH JAJC	26
4 RAZPRAVA	30
5 ZAKLJUČEK	32
6 VIRI IN LITERATURA.....	33

II KAZALO FOTOGRAFIJ

Slika 1: Izdelek liofilizacije (<i>Sušenje živil in liofilizacija, 2023</i>)	2
Slika 2: Postopek liofilizacije (LIOFILIZACIJA – Prihodnost Zdrave Prehrane / Nuts, 2021) ..	3
Slika 3: Voda (<i>Voda Prvič Kotirana Na Borzi » Noviglas, 2021</i>)	5
Slika 4: Jajca (<i>Kako Prepoznati Sveže Domače Jajce, n.d.</i>)	5
Slika 5: Borovnice (<i>Borovnice (Vaccinium Myrtillus), n.d.</i>)	6
Slika 6: Por (<i>Por: Svež Poleti in Pozimi, n.d.</i>)	6
Slika 8: Bele in modre borovnice (<i>Razlike med belo in modro gozdno borovnico, 2019</i>).....	8
Slika 9: Sestava jajc (<i>Ogrin, 2020</i>)	10
Slika 11: Liofilizirana jajca po liof.	11
Slika 10: Zamrznjena jacja pred liof.	11
Slika 12: Sveži por pred liof.	11
Slika 13: Liofiliziran por po liof.	11
Slika 14: Sveže borovnice pred liof.....	12
slika 15: Liofilizirane borovnice po liof.....	12
Slika 17: Pripravljena jodovica	12
Slika 16: Škrobovica	12
Slika 18: Titracija liofiliziranih borovnic	13
Slika 19: Filtracija svežih borovnic.....	13
Slika 20: Tabletka vit. C in raztopina v ozadju	14
Slika 21: Priprava liofiliziranega pora za drobljenje	14
Slika 22: Priprava svežega pora na miksanje in nato titracijo.....	15
Slika 23: Por v terilinici	15
Slika 24: Vakumsko filtriranje.....	16
Slika 25: Razporeditev tekočin	16
Slika 26: Mešanje na magnetnem mešalu	17
Slika 27: Palični mešalnik (MSM6B150 PALIČNI MEŠALNIK BOSCH TonerPartner.si, n.d.)	17
Slika 28: Por na analitski tehnci	17
Slika 29: Nučanje oz. vakuumska filtracija	18
Slika 30: Filtracija v liju na stojalu	18
Slika 31: Brizga s filtrom	18
Slika 32: Avtomatska pipeta	19
Slika 33:Ročica vzema vzorec za analizo	19
Slika 34: Spiranje liofiliziranega pora	20
Slika 35: Vzorec svežega pora v merilni bučki	20
Slika 36: Vakuumska filtracija svežih borovnic in MQ voda.....	21
Slika 37: Filtracija liofiliziranih borovnic.....	21
Slika 38: Pripravljeni standardi	22
Slika 39: Liofilizirana jajca	26
Slika 40: Zmleta jajca	26
Slika 41: Razdelitev različnih mešanic jajc.....	27
Slika 42: 1 žlica liof. jajc zmešana z 1 žlico vode	27
Slika 43: 1 žlica liof. jajc zmešana z 2 žlicama vode	27
Slika 44: 1 žlica liof. jajc zmešana s 3 žlicami vode	28
Slika 45: Sveža jajca	28
Slika 46: Omleta iz mešanice 1 žlice liof. jajc in 1 žlice vode	29

III KAZALO GRAFOV

Graf 1: Standardi	24
Graf 2: Primerjava standarda 5 in 10	24

IV KAZALO PREGLEDNIC

Tabela 2: Sestava pora v %	6
Tabela 3: Vsebnost vitamina C v svežih in liofiliziranih živilih.....	23
Tabela 4: Standardi	24
Tabela 5: Vsebnost vitamina C v živilih	25

Povzetek

V raziskovalni nalogi sva raziskovali liofilizacijo, pri kateri naju je zanimalo, koliko določenih snovi se ohrani med liofilizacijo. Najbolj naju je zanimala vsebnost vitamina C prej in po postopku liofilizacije. Liofilizirali smo jajca, borovnice in por. V jajcih so količine vitamina C premajhne, da bi poskus imel vrednost. Pri borovnicah in poru pa so količine vitamina C večje, zato smo opravili dva poskusa, jodimetrično in jodometrično titracijo. Opravili smo jih na svežih in liofiliziranih borovnicah. Ker pa vseeno nismo bili popolnoma prepričani o rezultatih sva se z mentoricama dogovorili, da bi poskus opravili še na Fakulteti za kemijno in kemijo tehnologijo, kjer smo imeli dostop do merilnih instrumentov, s pomočjo katerih izvemo natančne količine vsebnosti določenih snovi.

Ugotavliali sva tudi, v kakšni meri se ohrani barva testnih živil in kolikšen delež vode izgubijo posamezna živila. Pri liofiliziranih jajcih smo preverjali strukturo po dodatku vode ter ohranjanje oz. izgubo okusa.

Ključne besede: liofilizacija, vsebnost vitamina C, vsebnost vode, barva živil

Zahvala

Zahvaljujeva se svojima mentoricama, Lilijani Justin in Petri Novak, za pomoč in usmerjanje pri izdelavi raziskovalne naloge.

Zahvaljujeva se Karli Jereb za razumljivo razlago liofilizacije in za liofilizacijo živil (borovnic, jajc in pora).

Pri jodimetrični titraciji nama je najprej na pomoč priskočila Nina Cankar; gimnazijca z Gimnazije Kranj pa sta prav tako pomagala pri postopku jodometrične ter nama razložila postopek ter delovanje laboratorijskih pripomočkov. Vsem trem se iskreno zahvaljujeva.

Zahvaljujeva se Dragu Kočarju in Zdenki Držaj s Fakultete za kemijo in kemijo tehnologijo za razumljivo razlago delovanja instrumentov ter pomoč pri opravljanju analiz.

Nazadnje se zahvaljujeva še svojima družinama, še posebej mamama Andreji in Jolandi, za pomoč in podporo pri pisanju naloge.

1 UVOD

V okviru raziskovalne naloge sva raziskovali postopek procesa liofilizacije, delež vode in barvila v živilih, za katere uporabljamo omenjeni postopek ter njeno uporabo v vsakdanjem življenju. Omenjena tema naju zanima, ker se v okolici našega kraja (tj. v Žireh) nahaja kmetija imenovana Pr' Lipet, kjer predelujejo in prodajajo liofilizirano sadje. Onesnaženje pri omenjenem postopku ni veliko, saj se večina domačih pridelovalcev odloči za okolju prijazna pakiranja. Pomembno je, da so ti izdelki kakovostni in preprosti za uporabo ter shranjevanje. Pri svoji raziskavi sva že leli izvedeti podroben postopek in način obravnave.

Na poseben način sušeni izdelki predstavljajo velik del astronavtske prehrane. Takšna hrana je najbolj primerna za potovanje v vesolje, saj je lažja kot drugače pripravljena hrana in ima daljši rok uporabe. (*Freeze-Dried Foods Nourish Adventurers and the Imagination | NASA Spinoff*, n.d.). Naslov naloge *A gremo na Luno?* povezujeva s prvotnim namenom liofiliziranih živil.

Zaradi načina pridobivanja in obdelave podatkov sva pri svoji raziskavi sodelovali s Fakulteto za kemijo in kemijsko tehnologijo v Ljubljani.

V skladu s tem, kar naju zanima, sva postavili nekaj hipotez:

1. Liofilizirana živila barve ne spremenijo.
2. Od vseh liofiliziranih živil izgubijo največ vode borovnice.
3. Por med liofilizacijo izgubi približno 50 % svoje teže.
4. Jajca se po liofilizaciji povrnejo v osnovno strukturo ob dodatku vode v takšnem sorazmerju, kot jo med liofilizacijo izgubijo.
5. Preizkuševalci po uporabi liofiliziranih jajc zaznajo, da jajce ni sveže.
6. Določanje vitamina C lahko izvedemo v šolskem laboratoriju s pomočjo jodometrične titracije.
7. Vitamin C se med liofilizacijo v večini ohrani.

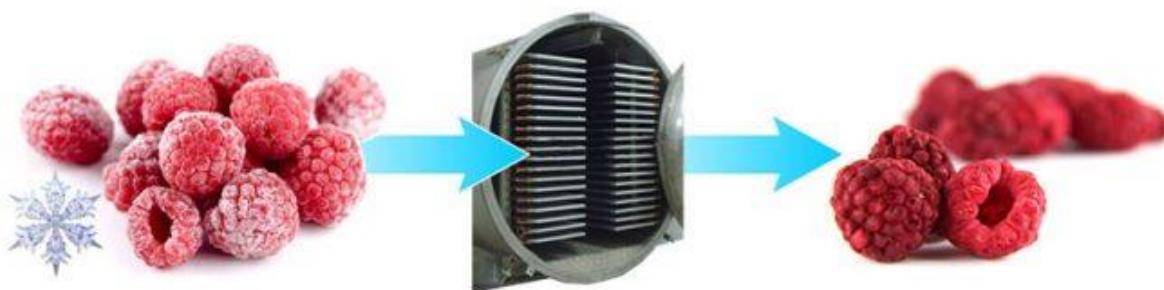


Slika 1: Izdelek liofilizacije (Sušenje živil in liofilizacija, 2023)

2 TEORETIČNI DEL

2.1 LIOLIFIZACIJA

Liofilizacija ali sušenje z zamrzovanjem je proces, s katerim odstranimo vodo iz organskih snovi, ki bi jih s segrevanjem poškodovali. Hkrati ohranimo njihovo strukturo in sestavo. Postopek je počasen in porabi 3-krat več energije kot navadno sušenje, zato ga uporabljamo le za občutljive in dražje produkte. Liofilizacija temelji na zamrznitvi vode, čemur sledi zmanjševanje tlaka in dodajanje dovolj velike količine toplote, da zamrznjena voda v pridelku sublimira neposredno iz trdnega v plinasto agregatno stanje (Wikimedia, 2023).



Slika 2: Postopek liofilizacije (LIOFILIZACIJA – Prihodnost Zdrave Prehrane / Nuts, 2021)

2.1.1 Zamrzovanje

Zamrzovanje je prvi korak procesa liofilizacije, ki omogoča pretvorbo začetne raztopine v trdno stanje. V procesu zamrzovanja se začetni izdelek zamrzne. V laboratoriju se običajno snov (snov, živilo) namesti v posebno komoro, vrtečo se v kopeli, ki je hlajena z mehanskim ohlajevanjem, suhim ledom in metanolom (ledeno-alkoholna kopel) ali tekočim dušikom. V večjem obsegu je zamrzovanje izvedeno v zamrzovalno-sušilnem stroju. Pri zamrzovanju je pomembno ohladiti snov pod njegovo trojno točko, najnižjo temperaturo, kjer je snov hkrati v trdnem in tekočem agregatnem stanju. S tem zagotovimo pojav sublimacije in se izognemo taljenju. V postopku liofilizacije, se lažje izognemo tvorbi večjih kristalov, ki nastajajo med počasnim zamrzovanjem produkta. V primeru hrane ali snovi z nekoč živimi celicami lahko veliki ledeni kristali uničijo celične stene. Običajno so zamrzovalne temperature med -50 in -80 °C (Bjelošević & Ahlin, 2021).

2.1.2 Primarno sušenje

Glavni cilj primarnega sušenja je odstranitev nastalega ledu s sublimacijo. Pojav sublimacije omogoča uvedba močno znižanega tlaka v sušilni komori in izbira ustrezne temperature polic. Čas primarnega sušenja je funkcija temperature polic in tlaka v komori, ki neposredno vplivata na temperaturo produkta med sušenjem in hitrost sublimacije vodne pare. Na začetku

primarnega sušenja tlak v komori hitro pada, medtem ko temperatura polic postopoma narašča. Ker se produkt zaradi sublimacije hlađa, se njegova temperatura postopoma približuje nastavljeni temperaturi polic. Ko temperatura produkta (T_p) doseže temperaturo polic, je sublimacija v celoti zaključena in primarno sušenje se konča. Najpogosteje uporabljamo tlak sušenja v območju med 0,1 in 0,3 mbar. Previsoki tlaki sušenja lahko povzročijo porušitev strukture liofilizata (kolaps), medtem ko lahko prenizki tlaki povzročijo kontaminacijo sušenega materiala z oljem vakuumski črpalki, obenem pa vplivajo na zmanjšanje kapacitete kondenzatorja. Temperatura sušenja mora biti skrbno izbrana z namenom optimizacije trajanja primarnega sušenja. Dolgo je veljalo, da mora biti temperatura zamrznjenega vzorca med primarnim sušenjem pod T_c , z namenom doseganja ustrezne videza liofilizacijske pogache, kar strokovno opišemo kot konzervativno sušenje. Nasprotno se danes na področju sušenja z zamrzovanjem vse bolj uveljavlja uporaba agresivnih pogojev sušenja, tj. sušenja vzorcev pri temperaturah, višjih od kritičnih temperatur T_g' in v nekaterih primerih celo T_c ($T_p > T_g'$ in T_c), ki večinoma ne vplivajo negativno na kritične lastnosti kakovosti produkta, medtem ko so časi sušenja bistveno krajsi kot pri konservativnem načinu sušenja (Bjelošević & Ahlin, 2021).

2.1.3 Sekundarno sušenje

Sekundarno sušenje predstavlja zaključno fazo procesa, pri kateri se zaradi povišanja temperature polic in pogosto tudi nekoliko nižjega tlaka preko procesa desorpcije iz vzorca odstrani še preostala vezana voda. Pomembno je, da na začetku sekundarnega sušenja, ko je delež vezane vode velik, temperaturo polic dvigujemo postopoma, da s prehitrim povišanjem temperature ne povzročimo kolapsa pogache, kar je še posebej pomembno za amorfne komponente. Pri določanju časa sekundarnega sušenja si lahko pomagamo z neposrednim merjenjem deleža zaostale vlage v vzorcih in ko je le-ta na sprejemljivem nivoju, običajno pod 2 % (m/m), lahko sekundarno sušenje zaključimo. Kljub temu da vsebnost vlage v vzorcih močno znižamo in s tem zagotovimo mikrobiološko in fizikalno-kemijsko stabilnost vzorcev, pa deleži vlage, manjši od 0,5 % (m/m), niso priporočljivi (Bjelošević & Ahlin, 2021).

2.1.4 Sublimacija

Poznamo tri agregatna stanja. Neposredni prehod med trdnim in plinastim agregatnim stanjem se imenuje sublimacija. Snov se med tem procesom segreva. Med najbolj znanimi snovmi, ki sublimirajo, je jod. Jod pri segrevanju tvori hlapa. Tudi led in sneg lahko sublimirata, le da ta dva sublimirata pri nižjih temperaturah pod lediščem (Wikimedia, 2019).

2.2 VODA V ŽIVILIH

2.2.1 Na splošno

Voda je prisotna prav v vseh živilih. Vsebnost vode v živilih niha od ekstremno majhnih vrednosti v sušenih izdelkih do ekstremno velikih v pijačah. Od vsebnosti vode so odvisne različne fizikalne lastnosti, kot so elektrolitska prevodnost, specifična teža, ipd. Voda v živilu je pomemben medij, predvsem za encimske reakcije in rast mikroorganizmov, s tem pa vpliva na stabilnost in obstojnost živil.

2.2.2 Kako jo merimo?

V bistvu lahko vsebnost vode v živilih izmerimo kar preprosto. Najlažje je, če najprej stehtamo težo določenega živila, nato to živilo posušimo, lahko tudi liofiliziramo. Ko je snov osušena in ne vsebuje več vode, jo ponovno stehtamo in nato lahko ugotovimo, kakšno vsebnost vode ima ta snov.



Slika 3: Voda (Voda Prvič Kotirana Na Borzi » Noviglas, 2021)

2.2.3 Jajca

Celotno jajce sestavlja okoli 76 % vode, zaradi česar jajce nima zelo visoke energijske vrednosti (133 kcal/100 g). Jajčni beljak je pretežno vodna raztopina beljakovin, ogljikovih hidratov in mineralov, medtem ko ima jajčni rumenjak skoraj 50 % suhe snovi, ki jo sestavljajo predvsem maščobe (65 %) in beljakovine (33 %) (Jajca, 2023).



Slika 4: Jajca (Kako Prepoznati Sveže Domače Jajce, n.d.)

2.2.4 Borovnice

Borovnice so v približno 85 % sestavljene iz vode, preostanek pa pretežno predstavljajo ogljikovi hidrati. Med ogljikovimi hidrati prevladujejo sladkorji, vsebujejo pa tudi kar nekaj prehranskih vlaknin. Med mikrohranili najbolj izstopata vitamina C in K ter mineral mangan. Znane so tudi po visoki vsebnosti antioksidantov, predvsem antocianinov, ki imajo vlogo pri zaščiti celic pred oksidativnim stresom (Lavriša, 2023)



Slika 5: Borovnice (*Borovnice (Vaccinium Myrtillus)*, n.d.)

2.2.5 Por

Vsebuje več kot 80 % vode (Kerin, 1993).

Tabela 1: Sestava pora v % (Kerin, 1993)

Parameter	Enote	Količine
Voda	%	86,3 – 90,8
Surove beljakovine	%	1,3 – 3,0
Surove maščobe	%	0,25 – 0,44
Sladkorji	%	2,86 – 6,71
Ogljikovi hidrati	%	4,55 – 9,21
Minerali	%	0,82 – 0,96



Slika 6: Por (*Por: Svež Poleti in Pozimi*, n.d.)

2.2.6 Masa vode v živilu

Vlažnost (oznaka u) je izražena kot delež mase vode v živilu glede na maso živila v absolutno suhem stanju (liofiliziranem stanju). Merimo jo v odstotkih.

Izračunamo jo po enačbi:

$$u = \frac{m(w) - m(0)}{m(0)}$$

$m(w)$ = masa svežega živila

$m(0)$ = masa absolutno suhega živila

2.2.7 Vsebnost vode

Vsebnost vode (oznaka w) prikazuje delež mase vode glede na maso vlažnega živila. Ta mera je najbolj uporabljen pri trženju lesnega goriva. Tudi to se izraža v odstotkih.

Za izračun se uporablja sledeča enačba:

$$w = \frac{m(w) - m(0)}{m(w)} * 100$$

$m(w)$ =masa svežega sadja

$m(0)$ =masa absolutno suhega sadja

2.3 BARVILA

Barvila so lahko umetnega ali naravnega izvora. Naravna barvila so lahko rastlinskega izvora, na primer iz sadja oziroma zelenjave, nekatera pa so tudi živalskega izvora, npr. pridobljena iz žuželk. V živilske izdelke se v namen obarvanja lahko dodajo tudi živila, vendar jih ne uvrščamo med aditive, temveč so sestavine živil. Tipični primeri takšnih sestavin so rdeče zelje, špinača, redkev, hibiskus ali celo sipino črnilo. Če pa so v živila dodani barvni izvlečki, pripravljeni iz takšnih živil, pa se že lahko ocenjuje, da gre za dodajanje aditivov, kar vpliva tudi na označevanje živil (Bogataj, Režen, 2020).

2.3.1 Barvila v borovnicah

Razlog za različen izgled je v drugačni sestavi borovnic, predvsem glede vsebnosti antocianinov - fenolnih spojin, ki so odgovorne za rdeča, modra ali vijolična obarvanja plodov. Tovrstne razlike v sestavi modre in bele gozdne borovnice so raziskali raziskovalci iz Biotehniške fakultete Univerze v Ljubljani (UL BF) ter Kmetijskega inštituta Slovenije. Zala Zorenč, mag. inž. hort., mlada raziskovalka na UL BF: »Z različnimi analizami smo ugotovili, da so plodovi bele borovnice nekoliko manjši, vsebujejo manjši delež vode oz. več suhe snovi, imajo pa tudi večjo vsebnost glukoze in fruktoze ter citronske in šikimske kisline. Zaradi tega imajo bele borovnice v primerjavi z modro obarvanimi tudi večjo vsebnost skupnih sladkorjev in kislin. Zaradi drugačnega razmerja med sladkorji in kislinami so slajšega okusa. Nasprotno imajo plodovi modro obarvanih borovnic večjo vsebnost sekundarnih rastlinskih metabolitov, kot so antocianini, flavanoli, flavonoli ter hidroksicimetne kisline.« (*Razlike med belo in modro gozdno borovnico*, 2019)



Slika 7: Bele in modre borovnice (*Razlike med belo in modro gozdno borovnico*, 2019)

2.3.2 Barvila v poru

Zeleno barvo poru daje klorofil. Ta rastlinam omogoča pretvorbo svetlobne energije v kemično obliko, ki jo lahko rastline kasneje izkoristijo v svojem metabolizmu. Zaradi klorofila med uživanjem pora pridobimo visoke količine številnih mineralov, kot tudi žveplene snovi, ki so pomembne za sintezo glutantuiona. Belo barvo pa poru dajejo antioksidanti, npr. vitamin C in alicin. (*Kaj Nam Pove Barva Sadja in Zelenjave - Kresnik*, n.d.)

2.3.3 Barvila v jajcih

V rumenjaku se nahajajo barvila iz skupine karotenoidov, luteina in zeaksantina. V rumenjaku le ti predstavljajo okoli 1 %. Karotenoidi so učinkoviti kot antioksidanti, v živilstvu pa se prav tako uporabljajo kot aditivi (barvila). (*Če je rumenjak pri trdo kuhanem jajcu obarvan zeleno, pomeni da . . .* 2019)

Zakaj se rumenjak včasih obarva zeleno?

To se lahko pojavi, kadar jajca kuhamo predolgo in na previsoki temperaturi ($T>84^{\circ}\text{C}$) Razlog za tem leži v reakciji med železom (Fe^{2+}) v jajčnem rumenjaku in vodikovem sulfidu H_2S v beljaku. Z denaturacijo beljakovin, sprostimo H_2S , ki reagira z železom in pride do nastanka

železovega sulfida (FeS): $\text{Fe}^{2+} + \text{H}_2\text{S} \rightarrow \text{FeS}$. Jajce je še vedno užitno, vendar ima nekoliko manj prijetno aroma in seveda neprivlačno barvo. Ko se vam naslednjič jajce obarva zeleno, boste vedeli zakaj. Da pri trdo kuhanih jajcih omejimo nastanek FeS , jih po kuhanju za nekaj časa namočimo v hladno vodo, s čimer bomo preprečili oziroma vsaj zmanjšali reakcijo nastanka FeS (*Če je rumenjak pri trdo kuhanem jajcu obarvan zeleno, pomeni da... 2019*).

2.4 KEMIJSKA SESTAVA

2.4.1 Sestava borovnic

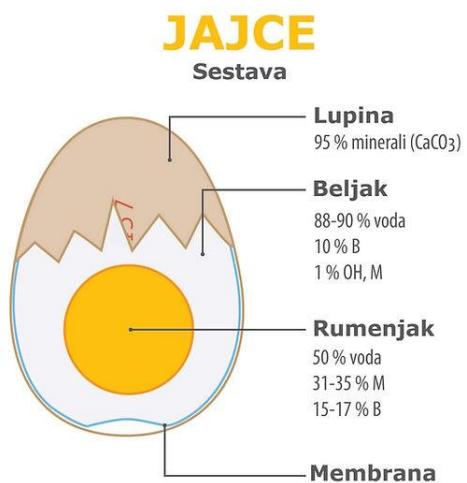
Borovnice so v približno 85 % sestavljene iz vode, preostanek pa pretežno predstavljajo ogljikovi hidrati. Borovnice so med sadjem eden najbogatejših virov antocianinov. Ti poleg antioksidativnega delovanja borovnicam dajejo tudi barvo, ki niha od rdeče do modre in vijolične. Med zorenjem koncentracija antocianinov v sadežu močno raste, kar nam tudi omogoča, da ločimo med zrelim in nezrelim sadežem. Antocianini predstavljajo kar 60 % vseh fenolnih snovi v zrelih borovnicah, zaradi česar pomembno prispevajo k pozitivnim vplivom borovnic na zdravje. Redno in zmerno uživanje borovnic naj bi, prav zaradi visoke vsebnosti antocianinov, prispevalo k zmanjšanju tveganja za razvoj nekaterih bolezni kot so srčno žilne bolezni in za izboljšanje ostrine vida (Lavriša, 2023).

2.4.2 Sestava pora

Por je živilo z nizkokalorično prehransko vrednostjo (100 g svežega pora vsebuje 61 kalorij). Bogat je s prehranskimi vlakninami in posledično pospešuje prebavo, ker je naravni diuretik. Je dober vir vitamina C, B6, magnezija, železa in kalcija. Por vsebuje tudi antioksidante (flavonole) in vitamin B9 (folat), ki imajo antioksidativni učinek, kar pomeni, da preprečujejo oksidativne procese v celicah ter tako pomagajo pri preprečevanju kardiovaskularnih bolezni in rakavih obolenj. Največja koncentracija antioksidantov je v lažnem steblu in spodnjem delu listov. Por znižuje tudi koncentracijo holesterola v krvi ter krepi imunski sistem (*Por - Portal Prehrana - Inštitut Za Nutricionistiko*, n.d.).

2.4.3 Sestava jajc

Celotno jajce sestavlja okoli 76 % vode, sicer pa vsebuje vse za življenje potrebne aminokisline, vezane v beljakovine z visoko biološko vrednostjo (100), kar pomeni, da jih lahko naše telo enostavno uporabi. Jajce vsebuje tudi minerale, med katerimi prevladujejo fosfor, cink, kalcij in železo ter številne vitamine, predvsem vitamina D in A, ter različne vitamine B kompleksa, npr. vitamin B12, riboflavin (B_2) in pantotensko kislino (B_5). Jajca so tudi vir holina, vitaminu podobne snovi, ki ima vlogo pri delovanju jeter, prispeva pa tudi k presnovi maščob in homocisteina. (*Jajca*, 2023)



Slika 8: Sestava jajc (Ogrin, 2020)

3 RAZISKOVALNI DEL

3.1 POSKUS LIOFILIZACIJE

Ker se v okolici Žirov nahaja kmetija, na kateri pridelujejo sadje, ki ga nato še liofilizirajo, smo se tja odpravili na obisk, da bi videli, kako vse to poteka. S pomočjo gospe, ki se ukvarja z liofilizacijo na kmetiji Pr' Lipet, smo liofilizirali jajca, por in borovnice.

Vzeli smo 12 jajc, jih dali iz lupine, dobro premešali in zamrznili v zamrzovalniku. Za tem smo jih za okoli 72 ur dali v liofilizator.



Slika 10: Zamrznjena jaca pred liof.



Slika 9: Liofilizirana jaca po liof.

Za jajci smo na liofilizacijo pripravili še por. Razrezali smo ga na manjše okoli 1 cm široke kolute in ga razporedili po pladnju. Pladenj smo položili na tehnico, da smo izvedeli začetno težo, ki je bila 505 g. Dali smo ga v liofilizator in počakali, da le-ta opravi svojo nalogo. Po liofiliziranju je bila teža pora 53 g. Ta dva podatka nam povesta, da iz 100 g svežega pora dobimo 10,5 g liofiliziranega.

$$m_{\text{pora po liof.}} = \frac{m_{\text{suh}}}{m_{\text{zac}}} \times 100 \text{ g} = \frac{53 \text{ g}}{505 \text{ g}} \times 100 \text{ g} = 0,105 \text{ g} \times 100 \text{ g} = 10,5 \text{ g}$$



Slika 11: Sveži por pred liof.



Slika 12: Liofiliziran por po liof.

Nato smo za liofilizacijo pripravili še borovnice. Postavili smo jih na pladenj, jim določili začetno težo, ki je bila 1017 g in jih dali v liofilizator. Postopek je bil enako dolg kot pri jajcih. Po liofilizaciji so bile borovnice težke 133 g. To pomeni, da iz 100 g svežega sadja dobimo 13,1 g liofiliziranega.

$$m_{\text{borovnic po liof.}} = \frac{m_{\text{suhha}}}{m_{\text{zač}}} \times 100 \text{ g} = \frac{133 \text{ g}}{1017 \text{ g}} \times 100 \text{ g} = 0,131 \text{ g} \times 100 \text{ g} = 13,1 \text{ g}$$



Slika 13: Sveže borovnice pred liof



Slika 14: Liofilizirane borovnice po liof.

3.2 METODOLOGIJA

Želimo izvedeti, koliko vitamina C se ohrani med liofilizacijo.

3.2.1 Jodimetrična titracija

Prvi poskus, k smo ga opravili, je bila jodimetrična titracija.

Najprej smo stehtali 2 g kalijevega jodida in 1,3 g joda. Ti dve kemikaliji skupaj z malo destilirane vode dobro premešamo. Vse skupaj prelijemo v merilno čašo in dodamo toliko destilirane vode, da je vse tekočine skupaj 1 L. Posebej v manjši čaši pripravimo škrobovico. To naredimo tako, da na plinskem gorilniku segregemo malce vode, tej pa nato dodamo 0,25 g škroba. Skupaj dobro premešamo. Ker se škrob ni hotel raztopiti v vodi, smo jo še enkrat zavreli.



Slika 16: Škrobovica



Slika 15: Pripravljena jodovica

3.2.1.1 Določanje vitamina C v liofiliziranih borovnicah

Stehtali smo 100 g liofiliziranih borovnic, pri čemer smo se zmotili. Morali bi natehtati 13,1 g le-teh, da bi bili podatki popolnoma točni. V električnemu mešalniku smo zmleli borovnice in vmes dodajali vodo. Nato smo tekočino skozi trikotno ruto precedili, da smo se znebili usedline. Iz te tekočine smo vzeli 20 mL vzorca in ga zmešali skupaj s 150 mL destilirane vode. 10 mL tega vzorca smo nato skupaj s 40 mL zmešali v drugi čaši. V bireto smo še prelili jodovico in začeli s titriranjem tekočine, ki smo jo dobili na koncu. Po tem, ko smo v tekočino vlili 2 mL jodovice, se je obarvala modro, kar pomeni, da je reagiral ves vitamin C.



Slika 17: Titracija liofiliziranih borovnic

$$\begin{aligned} m_{vit\ C} &= V_{jodovice} \times m(1mL) = & m_{vit\ C\ na\ 100\ g} &= 10 \times m_{vit\ C} = \\ 2\ mL \times 1,01\ mg/mL &= 2,02\ mg & 10 \times 2,02\ mg &= 20,2\ mg \end{aligned}$$

3.2.1.2 Določanje vitamina C v svežih borovnicah

Spet smo stehtali 100 g svežega sadja, ga zdrobili in vmes dodajali vodo. Nato smo ga prefiltirali in prelili v čašo. 10 mL nastale tekočine in 50 mL destilirane vode smo zmešali skupaj, dodali 1 ml škrobovice in nato začeli s filtracijo. Z vitaminom C je reagiralo 1,5 mL jodovice.

$$\begin{aligned} m_{vit\ C} &= V_{jodovice} \times m(1\ mL) = & m_{vit\ C\ na\ 100\ g} &= m_{vit\ C} \times 10 \\ 1,5\ mL \times 1,01\ mg/mL &= 1,52\ mg & 1,52\ mg \times 10 &= 15,2\ mg \end{aligned}$$



Slika 18: Filtracija svežih borovnic

3.2.1.3 Standardizacija raztopine jodovice

Vzeli smo tableto s 500 mg vitamina C in jo v terilnici razdrobili. Zdrobljeno tabletko smo skupaj s 50 mL destilirane vode zmešali v čaši. Vzeli smo 5 mL te tekočine in jo v novi čaši zmešali s 40 mL destilirane vode ter 1 mL škrobovice. Med titracijo tabletke vitamina C smo porabili 49,5 mL jodovice, šele takrat pa je reagiral vitamin C.



Slika 19: Tabletka vit. C in raztopina v ozadju

3.2.1.4 Določanje vitamina C v liofiliziranem poru

Stehtali smo 10,5 g liofiliziranega pora, saj iz 100 g svežega dobimo takšno količino liofiliziranega. V električnemu mešalniku smo ga zmleli in dodali precej manj vode kot pri borovnicah. Ko je bil por zdrobljen, smo tudi to prefiltrirali skozi trikotno ruto in dobili tekočino brez usedline. Vzeli smo 20 mL te tekočine, ki smo ji nato primešali še 150 mL destilirane vode. Dodali smo še 1 mL škrobovice in pričeli s titracijo. Med titracijo smo porabili 12,5 mL.



Slika 20: Priprava liofiliziranega pora za drobljenje

$$m_{vit\ C} = V_{jodovice} \times m(1\ mL) =$$

$$12,5\ mL \times 1,01\ mg/mL = 12,63\ mg$$

$$m_{vit\ C\ na\ 100\ g} = m_{vit\ C} \times 5 =$$

$$12,63\ mg \times 5 = 63,15\ mg$$

3.2.1.5 Določanje vitamina C v svežem poru

Stehtali smo 100 g pora in ga z dodajanjem vode zmleli. Prefiltrirali smo ga tako, da je ostala le tekočina. Vzeli smo 20 mL le-te in ji dodali 150 mL destilirane vode ter 1 mL škrobovice. Začeli smo titrirati in pri tem uporabili 8,5 mL jodovice.



Slika 21: Priprava svežega pora na miksanje in nato titracijo

$$m_{vit\ C} = V_{jodovice} \times m(1\ mL) =$$

$$8,5\ mL \times 1,01\ mg/mL = 8,59\ mg$$

$$m_{vit\ C\ na\ 100\ g} = m_{vit\ C} \times 5 =$$

$$8,59\ mg \times 5 = 42,95\ mg$$

3.2.2 Jodometrična titracija

1. Najprej smo stehtali 100 g svežih in 13,1 g liofiliziranih borovnic, vsake v svoji čaši nato pa še 10,5 g liofiliziranega pora in 100 g svežega, vsakega v svoji čaši.
2. Nato smo vsebino vsake čaše posebej v terilnici zdrobili.



Slika 22: Por v terilinici

3. Iz terilnice smo vsebino sprali v čaše z vodo.
4. Da pa nas pri naslednjih postopkih ne bi motili koščki, smo snov nučali oz. vakuumsko filtrirali. Tudi pri tem postopku je bilo potrebno pri obeh vrstah borovnic dodajati več vode kot pri poru.
5. Nastale filtrate smo razredčili na znano prostornino. Borovnice obeh vrst so med filtracijo potrebovale več vode, zato smo jih razredčili na prostornino 500 mL. Por, ki pa ni potreboval toliko vode, smo razredčili na 250 mL.



Slika 23: Vakumsko filtriranje

- Iz nastalih tekočin smo vzeli alikvote, pri borovnicah 100 mL in pri poru 50 mL. Za vsako vrsto smo pripravili po tri vzorce.



Slika 24: Razporeditev tekočin

- V alikvote smo dodali 5 mL 0,1 M jodovice in 5 mL škrobovice.

$$\begin{aligned} n(I_2) &= C_I \times V_I = \\ &= 0,1 \times 0,005 = \\ &= 0,0005 \text{ mol} \end{aligned}$$

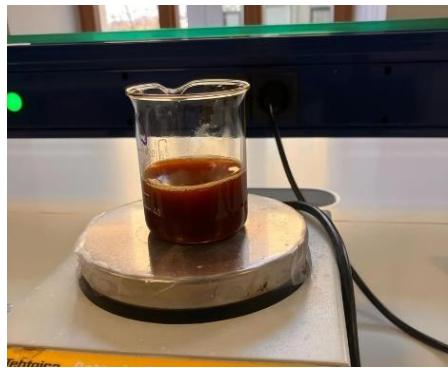
5 ml 0,1 M jodovice \sim 0,0005 mol I₂

Škrobovico primešamo, kot indikator.

C = koncentracija v molih na liter

V = volumen v litrih

- Da pa je bilo res vse dobro premešano, smo vsako čašo posebej položili na magnetno mešalo.

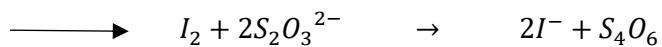


Slika 25: Mešanje na magnetnem mešalu

9. Ko je ves jod reagiral, smo preostanek titrirali z natrijevim tiosulfatom.

$0,05 \text{ M } Na_2S_2O_3$ ~ natrijev tiosulfat

Med titracijo smo mešali in na koncu izmerili količino nereagiranega joda (I_2)



3.2.3 Tekočinska kromatografija na Fakulteti za kemijo in kemijsko tehnologijo

3.2.3.1 Opis vzorca raziskave

Liofiliziran por smo imeli pripravljen. Liofiliziranih borovnic pa smo imeli premalo, zato smo liofilizirali nove. Ta postopek smo opravili na že zamrznjenih borovnicah. Za analizo svežih borovnic smo uporabili gozdne borovnice, ki so bile nabранe hkrati kot liofilizirane.

3.2.3.2 Opis merskih instrumentov (pripomočkov)

Za živila, ki smo jih najprej odtehtali na analitski tehnci in nato še spasirali, smo potrebovali palični mešalnik.



Slika 26: Palični mešalnik (MSM6B150
PALIČNI MEŠALNIK BOSCH |
TonerPartner.si, n.d.)



Slika 27: Por na analitski tehnci

Potrebovali smo tudi nučo oziroma vakuumski filtrator bel filtrirni papir.



Slika 28: Nučanje oz. vakuumska filtracija



Slika 29: Filtracija v liju na stojalu

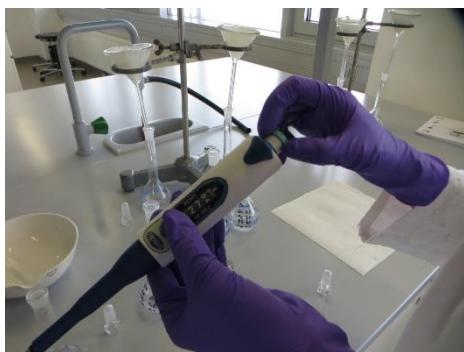
Pri ponovni filtraciji smo filtrirali skozi beli filtrirni papir, ki je bil položen v lij na stojalu.

Z brizgami, na katere smo pritrtili 0,45 µm velik filter, smo vzorce prenesli v manjše viale, ki smo jih nato postavili v HPLC (naprava za tekočinsko kromatografijo visoke ločljivosti).



Slika 30: Brizga s filtrom

Posebej bi omenili še avtomatsko pipeto, s katero smo lahko namerili izjemno majhno količino raztopine v razponu 100–1000 µl. Na številčnici smo nastavili količino, ki jo želimo odpipetirati, in pipeti pritrdimo čist nastavek. S polovičnim pritiskom na gumb tekočino posrkamo v pipeto, ko na gumb pritisnemo do konca, pa vsebino pipete spustimo v bučko ali epruveto.



Slika 31: Avtomatska pipeta

Analizo vzorcev smo opravili v napravi imenovani kromatograf. Kromatograf je priprava, ki zmes (raztopino ali plin) loči na posamezne komponente, ki se prikažejo na grafu ob določenem času. Te, glede na čas ob katerem se pokažejo na grafu določimo in ugotovimo, koliko je neke komponente v zmesi. Ta komponenta je v našem primeru askorbinska kislina ali vitamin C.



Slika 32: Ročica vzema vzorec za analizo

Za redčenje in spiranje smo porabljali MQ-vodo¹. Ta je izjemno dobro očiščena skozi filtre. V filtrih so različne plasti peska, skozi katere gre voda. Potem gre skozi filter, ki odstrani ione, tako da je voda izjemno čista. To lahko ugotovimo tudi po prevodnosti elektrike, saj prečiščena voda slabše prevaja elektriko.

3.2.3.3 Opis postopka zbiranja podatkov

Najprej smo pripravili vzorec liofiliziranega pora. Na analitski tehnični smo odtehtali 21,1 g liofiliziranega pora. Nato smo ga s paličnim mešalnikom v posodi zmešali. Tega smo spirali z

¹ MilliQ voda je visoko prečiščena destilirana voda pridobljena z aparatom za reverzno osmozo proizvajalca MilliQ.

MQ-vodo. Ko je bila snov spasirana, smo tudi pri tem poskusu uporabili metodo nučanja oz. vakuumsko filtracijo. Na nučo smo postavili beli filtrirni papir, zato da ni bilo v vzorcu večjih delcev. Na stojalo smo postavili lij in v njega dali beli filtrirni papir, skozi katerega smo še enkrat prefiltrirali novonastali vzorec, ki smo ga prej premešali. Po filtraciji smo vzeli manjšo količino filtriranega vzorca in ga skozi zelo fin filter ($0,45\text{ }\mu\text{m}$) 1 mL prelili v manjšo posodico za vzorce, katere vsebino smo za vsak slučaj še enkrat premešali. Vzorec smo označili in ga pripravili za tekočinsko kromatografijo.



Slika 33: Spiranje liofiliziranega pora

Potem smo pripravili vzorec svežega pora. Tudi tokrat smo ga odtehtali na analitski tehnici, in sicer 121,8 g. Postopek smo ponovili, manjši vzorec smo označili in ga analizirali.

Ker je bila vsebnost pri prvotni analizi prevelika, smo vzorec zredčili tako, da smo 1 mL začetnega vzorca dodali 1 mL MQ vode in ga premešali ter ponovno analizirali.



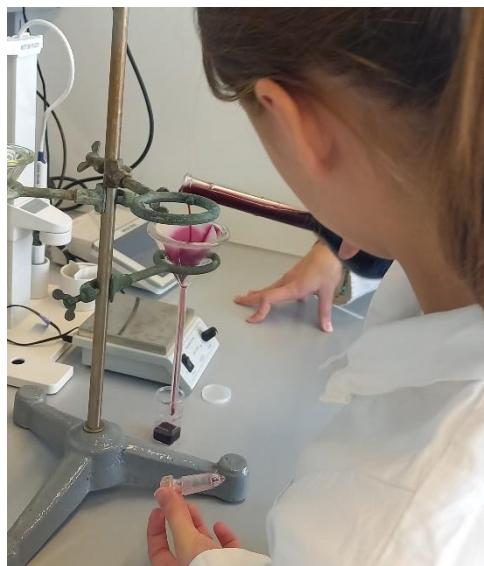
Slika 34: Vzorec svežega
pora v merilni bučki

Sledila je priprava vzorca svežih borovnic. Teh smo odtehtali dvakrat, prvič 82,8 g in nato drugič 89,7 g, kar je skupaj 172,5 g. Po drobljenju smo nučali skozi beli filtrirni papir in zatem še skozi beli filtrirni papir v liju. Na koncu pa še skozi $0,45\text{ }\mu\text{m}$ filter. Vzorec smo označili in ga pripravili na analizo.



Slika 35: Vakuumska filtracija svežih borovnic in MQ voda

Kot zadnje smo pripravili vzorec liofiliziranih borovnic. Odtehtali smo jih 22,6 g ter jih spasirali. Med nučanjem smo imeli veliko težav, zato smo vzorec razdelili na pol in vsakega posebej premešali. Nato smo prvi del dvakrat prefiltrirali, ga označili in pripravili za tekočinsko kromatografijo. Tako kot prvi del smo isto pripravili drugega, ga označili in analizirali.



Slika 36: Filtracija liofiliziranih borovnic

Standardizacija askorbinske kisline (vitamin C)

Pripravili smo osnovno raztopino askorbinske kisline. To smo naredili tako, da smo na analitski tehnicni na štiri decimalke odtehtali 0,1009 g (1,009 mg). Iz ladjice, v kateri smo snov odtehtali, smo sprali vso snov in jo v merilni bučki zredčili s toliko MQ-vode, da smo imeli 100 mL. To smo dobro premešali.

Priprava standardov:

Vsi standardi so imeli volumen 100 mL, kar pomeni da smo askorbinski kislini dodajali MQ-vodo² do te količine. Pripravili smo pet različnih standardov z različnimi količinami askorbinske kisline.



Slika 37: Pripravljeni standardi

3.2.3.3 Analiza pripravljenih vzorcev

Kromatografija je postopek za ločevanje zmesi. Pri kromatografiji gre vzorec skozi napravo in pokaže, kdaj je neka spojina prišla do detektorja. Praviloma ima vsaka komponenta zmesi določen čas, ob katerem jo kromatograf prikaže, zaradi katerega ponavadi lahko določimo vrsto komponente.

Uporabo kromatografije za določevanje identitete in koncentracije molekul v zmesi imenujemo analitična kromatografija, ki smo jo uporabili za določanje vitamina C v našem poizkusu.

Tako smo v napravo oddali vse vzorce in standarde. Standardi so nam pokazali, ob katerem času se nam bo na grafu prikazala askorbinska kislina, kar je bilo okoli 2,16 minute. Če je bilo v standardu več vsebnosti vitamina C, je bila krivulja večja, in če je bila vsebnost manjša, je bila posledično tudi krivulja manjša. Ko smo videli rezultate standardov, smo lahko ugotovili, katera krivulja na grafu od vzorcev svežega in liofiliziranega pora ter svežih in liofiliziranih borovnic je krivulja askorbinske kisline. Ta je bila pokazana ob istem ali pa zelo podobnem času kot pri standardih. Velikost nam je bila znana iz grafa in smo jo lahko primerjali s standardi.

3.3 REZULTATI

3.3.1 Jodimetrična titracija

Po standardizaciji smo ugotovili, da 1 ml jodovice reagira na 1,01 mg vitamina C. To pomeni, da je v svežih borovnicah na 100 g 15,2 mg vitamina C. V liofiliziranih je le tega 20,2 mg na 100 g liofiliziranih borovnic. V svežem poru je več vitamina C, kar se vidi tudi pri podatku, da

² Visoko prečiščeno vodo

je na 100 g svežega pora 42,95 mg vitamina C. V liofiliziranem pa je v 100 g takšnega pora 63,15 mg vitamina C.

3.3.2 Jodometrična titracija

Tabela 2: Vsebnost vitamina C v svežih in liofiliziranih živilih

	BOROVNICE: 500 mL		POR: 250 mL	
	sveže	liofilizirano	sveže	liofilizirano
JODOVICA	5 mL	5 mL	5 mL	5 mL
Na ₂ S ₂ O ₃ :				
1 [mL]	14,5	15,0	8,0	13,5
2 [mL]	14,0	14,5	11,5	12,0
3 [mL]	12,5	16,5	12,5	12,5
POVPREČNO [mL]	13,7	15,3	10,7	12,5
n(Na ₂ S ₂ O ₃)	$6,9 \times 10^{-4}$	$7,7 \times 10^{-4}$	$5,4 \times 10^{-4}$	$6,3 \times 10^{-4}$
n (porabljen jod)	$1,6 \times 10^{-4}$	$1,2 \times 10^{-4}$	$2,3 \times 10^{-4}$	$1,9 \times 10^{-4}$
n (vitamin C)	$1,6 \times 10^{-4}$	$1,2 \times 10^{-4}$	$2,3 \times 10^{-4}$	$1,9 \times 10^{-4}$
n (vit. C na 100 g)	$7,8 \times 10^{-4}$	$5,9 \times 10^{-4}$	$1,2 \times 10^{-3}$	$9,3 \times 10^{-4}$
m (vit. C na 100 g)	136 mg	104 mg	203 mg	163 mg

PRIMER ZA LIOFILIZIRANE BOROVNICE:

n(Na₂S₂O₃)

$$C \times V = 0,05 \text{ mol/L} \times 0,0153 \text{ L} = 7,7 \times 10^{-4} \text{ mol}$$

n (porabljen jod)

$$n_{jod} - \frac{1}{2} \times n_{(Na_2S_2O_3)} = 0,005 \text{ L} - \frac{1}{2} \times 7,7 \times 10^{-4} = 1,2 \times 10^{-4} \text{ mol}$$

n (vit. C na 100 g)

$$n_{vit\ C} \times 5 = 1,2 \times 10^{-4} \times 5 = 5,9 \times 10^{-4} \text{ mol}$$

m (vit. C na 100 g)

$$M \times n = 176,12 \frac{\text{g}}{\text{mol}} \times (5,9 \times 10^{-4} \text{ mol}) = 0,104 \text{ g} = 104 \text{ mg}$$

Pri poskusu nismo mogli določati le vitamina C, ampak smo določili vse antioksidante. Še vseeno lahko iz poskusa razberemo, da se med liofilizacijo ohrani okoli 78 % vitamina C.

Smo pa ugotovili, da je v svežih borovnicah 136 mg antioksidantov, po liofilizaciji pa se jih ohrani še 104 mg. Por, kot smo ugotovili že pri prejšnjem poskusu, ima več antioksidantov, in sicer jih ima svež 203 mg, liofiliziran pa 163 mg. Pri vseh meritvah govorimo o meritvah na 100 g živila. Se pravi pri liofiliziranih borovnicah 13,1 g, pri liofiliziranem poru pa 10,5 g.

3.3.3 Kromatografija standardov

Tabela 3: Standardi

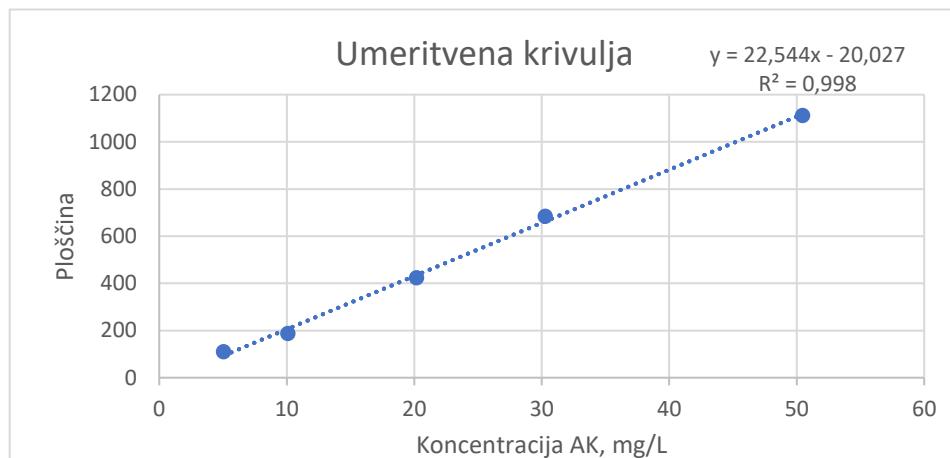
osnovni standard, mg/L 1009	koncentracija, mg/L	ploščina
	0	0
0,5	5,045	110,5
1	10,09	187,1
2	20,18	422,8
3	30,27	683,4
5	50,45	1111,9

PRIMER IZRAČUNA ZA 0,5 mL ASKORBINSKE KISLINE Z VODO, DO VOLUMNA 100 ML:

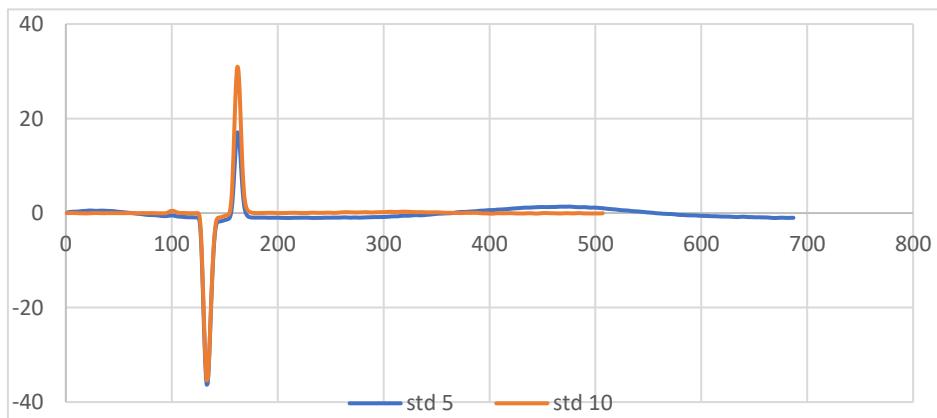
Koncentracija:

$$0,5 \text{ mL} \times 1009 \div 100 = 5,045 \text{ mg/L}$$

Graf 1: Standardi



Graf 2: Primerjava standarda 5 in 10



3.3.4 Kromatografija živil

Po tekočinski kromatografiji so se nam na računalniku izpisali rezultati. Ker smo prej analizirali že standarde, smo vedeli, kje se nam bodo pojavili rezultati o vitaminu C. Ker je askorbinska kislina (vitamin C) zelo polarna, ni trajalo dolgo, da smo dobili rezultate o tej. Pojavila se je okoli 2,16 minute. Nato smo lahko ploščino, ki smo jo dobili pri analizi vzorca, primerjali in približno ugotovili, kasneje pa smo še izračunali vsebnost vitamina C.

Tabela 4: Vsebnost vitamina C v živilih

	MASA, g	KONCENTRACIJA <i>mg/L</i>	PLOŠČINA	MASA AK, mg	mg/100 g
LIOFILIZIRAN POR, 2X REDČEN	21,1	21,78	470,9	10,888	51,6
SVEŽI POR	121,8	39,10	861,5	9,776	8,0
LIOFILIZIRANE BOROVNICE, 1. DEL	22,6	1,68	36,87	0,421	1,9
SVEŽE BOROVNICE	172,5	1,35	29,6	0,338	0,2
LIOFILIZIRANE BOROVNICE, 2. DEL	22,6	0,00	0	0,000	0,0

Ugotovili smo, da je v 100 g liofiliziranega pora 51,6 mg vitamina C, v svežem ga je 8 mg na 100 g živila. V 1. delu liofiliziranih borovnic, ki smo jih testirali je bilo 1,9 mg vitamina C, v drugem delu pa ga med analizo nismo zaznali. V svežih borovnicah je na 100 g živila 0,2 mg vitamina C.

PRIMER ZA 2-KRAT REDČEN LIOFILIZIRAN POR:

Koncentracija:

ZA 2-KRAT REDČEN POR:

$$(p + 20,027) \div 22,544$$

$$(470,9 + 20,027) \div 22,544 = 21,78 \text{ mg/L}$$

Pri liofiliziranih in svežih borovnicah smo uporabili enačbo $p \div 21,903$, pri poru obeh vrst pa enačbo $(p + 20,027) \div 22,544$.

ZA SVEŽE BOROVNICE:

$$p \div 21,903 =$$

$$29,6 \div 21,903 = 1,35 \text{ mg/L}$$

Masa:

$$21,78 \text{ mg/L} \div 0,25 \text{ L} \div 2 = 10,888 \text{ mg}$$

Tukaj smo delili z dva, zato, ker smo vzorec redčili, pri izračunu ostalih vzorcev tega nismo naredili.

Mg/100g:

$$10,888 \text{ mg} \div 470,9 \times 100 = 51,6 \text{ mg}$$

3.4 PREIZKUŠANJE STRUKTURE LIOFILIZIRANIH JAJC

Jajca smo liofilizirali, kot je opisano pri metodologiji, ter jih spekli kot umešana jajca, in sicer z merilom ena žlica liofiliziranih jajc, ena žlica vode; ena žlica liofiliziranih jajc, dve žlici vode; ena žlica liofiliziranih jajc, tri žlice vode.

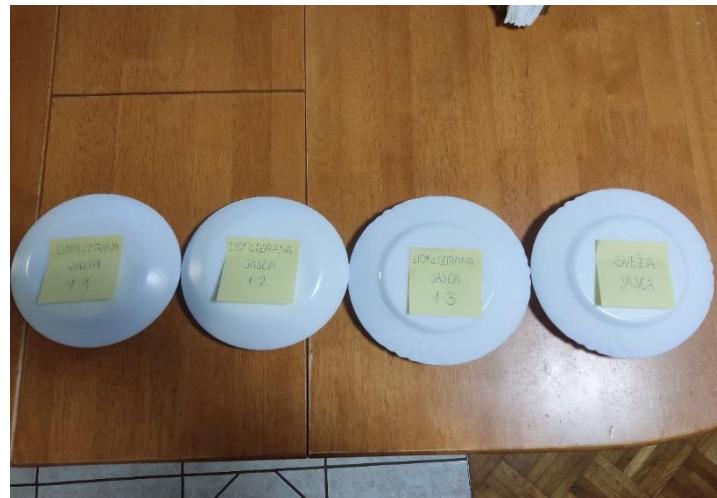


Slika 38: Liofilizirana jajca

Liofilizirana jajca so sama oddajala bolj neprijeten vonj kot pred pečenjem. Ta zdrobljena jajca smo zmleli v prah in jih zmešali z določeno količino vode ter pustili kratek čas stati, da so se lahko povezala z vodo.



Slika 39: Zmleta jajca



Slika 40: Razdelitev različnih mešanic jajc

Pečena jajca z merilom 1:1 smo dali poizkusiti trem osebam. Ta so jih opisala v primerjavi s sveže pečenimi jajci. Dejali so, da so imela isti vonj in isto barvo kot sveže pečena jajca. Bila so malo bolj pusta, ampak drugače istega okusa in dodali so še, da se vonjajo manj kot sveža.



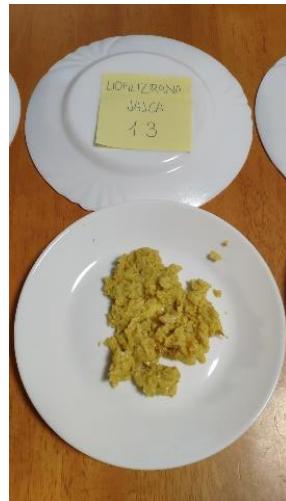
Slika 41: 1 žlica liof. jajc zmešana z 1 žlico vode

O pečenih jajcih z merilom 1:2 so povedali, da so bolj mokra in imajo kašasto strukturo. Vonj je podoben starejšim jajcem, le manj močen, barva pa se je potemnila in začela vleči na zeleno.



Slika 42: 1 žlica liof. jajc zmešana z 2 žlicama vode

Pečena jaja z merilom 1:3 pa so bila opisana kot še bolj vodenina in kašasta kot 1:2, barva se je potemnila in dobila zelenkast privdih, vonj je bil podoben starim jajcem, le manj močen.



Slika 43: 1 žlica liof. jajc zmešana s 3 žlicami vode



Slika 44: Sveža jajca

Glede na vse dejavnike smo ugotovili:

- več kot dodaš vode liofiliziranim jajcem, dlje se bodo pekla;
- več kot dodamo vode, večja je barvna razlika, in sicer se obarva rahlo zelenkasto;
- več kot dodamo vode, bolj jajce spominja na kuhanino kot pečeno;
- 1:1 jajca se hitreje spečejo kot pa 1:2 in 1:3 ter tudi manj cvrčijo;
- z jajci 1:1 se da narediti tudi omleto, ki je iste strukture kot iz svežih jajc;
- količinsko so bila vsa jaca približno enaka,
- sveža jajca so imela vmes bel beljak zaradi pomankljivega mešanja, ampak bi bila drugače istega izgleda kot 1:1 jajca.

Naredili smo tudi omleto z zdrobljenimi liofiliziranimi jajci z merilom 1:1. Bila je iste strukture kot iz svežih jajc, edina razlika je bila, da je imela ta omleta delčke v sebi, ki so se tudi videli. Na podlagi tega smo ugotovili, da je bolje, če liofilizirana jajca zmeljemo v prah, saj se bolje vežejo z vodo in jo bolje vpijejo. Prav tako zmelta jajca zavzamejo manj prostora in tako lažje

napolnimo kozarec z več vsebine. Tako smo ugotovili, da če imamo dva enaka kozarca zdrobljenih jajc, se z zmletimi jajci napolni približno en kozarec, kar pa je odvisno tudi od tega, kakšen kozarec imamo ter kako so zdrobljena liofilizirana jajca.



Slika 45: Omleta iz mešanice 1 žlice liof. jajc in 1 žlice vode

4 RAZPRAVA

V najini raziskavi sva raziskovali liofilizacijo. Glavna tema, ki naju je zanimala pri liofilizaciji, pa je bila količina ohranjenega vitamina C.

Za pridobitev podatkov o ohranjenosti vitamina C po liofilizaciji sva opravili 3 poskuse, pred vsakim poskusom pa smo si na internetu ogledali podatke o količinah, ki so nas zanimale.

Glede na vire je vsebnost vitamina C na 100 g svežih borovnic 9,70 mg. (*Blueberry: Calories and Nutritional Composition | Aprifel, 2022*) Pri poskusu jodimetrične titracije smo dobili podatke, ki so imeli večjo vrednost. Pri 100 g svežih borovnic smo izmerili 15,2 mg vitamina C, pri 100 g liofiliziranih borovnic pa 20,2 mg.

Ker smo zaznali, da je s podatki nekaj narobe, smo se odločili, da opravimo še en poskus. To je bila jodometrična titracija. Pri tem poskusu smo že na začetku vedeli, da rezultati ne bodo prikazani le za vitamin C, temveč za vse antioksidante. Kljub temu smo opravili poskus, da bi lahko vsaj približno določili, koliko vitamina C se ohrani. Za 100 g svežih borovnic smo izračunali vrednost 136 mg antioksidantov, med katerimi je tudi vitamin C. Pri liofiliziranih borovnicah se je pri 13,1 g ohranilo še 104 mg antioksidantov. Po tem smo sklepali, da se ohrani približno 76 % antioksidantov in s tem tudi toliko vitamina C.

S podatki vseeno nismo bili zadovoljni, saj so nas zanimale le vrednosti vitamina C. Zato smo poskuse opravili še v merskih instrumentih, ki so namenjeni takšnim raziskavam. Na Fakulteti za kemijo in kemijsko tehnologijo smo opravili tekočinsko kromatografijo. Tam smo dobili točnejše podatke o vsebnosti vitamina C. Dokazali smo, da se vitamin C ohrani, nismo pa dobili pravih količin. Vsebnost vitamina C na 100 g svežih borovnic je 0,2 mg antioksidativne snovi, askorbinske kisline. V 100 g liofiliziranih borovnic pa smo zaznali 1,9 mg vitamina C. Iz 100 g svežih borovnic pridobimo 13,1 g liofiliziranih, če pa izračunamo, ugotovimo da je v 13,1 g liofiliziranih borovnic 0,20 mg vitamina C, kar pomeni, da se med liofilizacijo ta ohrani.

Rezultati so bili pri vsakem poskusu različni. Za prva dva poskusa, jodimetrično in jodometrično titracijo glede rezultatov ne moremo biti povsem prepričani, lahko pa smo prepričani glede rezultatov tekočinske kromatografije. Iz te smo ugotovili, da se vitamin C vsaj pri borovnicah ohrani.

Pri prvem poskusu, jodimetrični titraciji smo dobili rezultat, da se v 100 g pora nahaja 42,95 mg vitamina C. Še bolj nenavadno pa je bilo, ko smo ugotovili, da 10,5 g liofiliziranega pora, ki smo ga dobili iz 100 g svežega, vsebuje več vitamina kot sveži por, in sicer 63,15 mg.

Tudi pri obeh vrstah pora smo opravili še jodometrično titracijo. Tudi tokrat so bile vrednosti izračunane za vse antioksidante in ne le za vitamin C. Kot smo lahko opazili že v prejšnjem poskusu, so vrednosti v poru večje kot v borovnicah, kar iz rezultatov razberemo tudi pri tem poskusu. V 100 g svežega pora je 203 mg antioksidantov. Iz teh 100 g pa smo dobili 10,5 g liofiliziranega pora, v katerem se je med liofilizacijo ohranilo 163 mg antioksidantov, katerih del je tudi vitamin C. Po poskusu smo lahko glede na ohrambo antioksidantov sklepali tudi ohrambo vitamina C. Med liofilizacijo se je ohranilo 80 % antioksidantov, po čemer sklepamo, da se prav toliko ohrani tudi vitamina C.

Zaradi pomanjkljivih podatkov smo tudi v tem primeru opravili še tekočinsko kromatografijo. Poskus pri obeh vrstah pora je bil pravilen, le da smo zaznali manjše količine vitamina C, napram vsebnostim zapisanih v viru. V 100 g svežega pora smo zaznali 8 mg vitamina C; ko smo merili vsebnost vitamina C v 100 g liofiliziranega pora, pa je bila količina zaznanega 51,6 mg. Med liofilizacijo se ni ohranil ves vitamin C, kot se je pri borovnicah. Mogoče je tudi, da je

liofiliziran por izgubil malo vitamina C, saj je od liolifiizacije poteklo veliko časa. Po izračunu, naj bi bilo v 10,5 g liofiliziranega pora, ki ga dobimo iz 100 g svežega 5,4 mg vitamina C, kar je manjša količina kot tista, ki smo jo dobili pri analizi 100 g svežega pora.

Tudi tukaj so bili rezultati pri vsakem poskusu različni. Za prva dva poskusa, jodimetrično in jodometrično titracijo velja, da rezultati niso natančni, rezultati tekočinske kromatografije pa so pravilni. Iz te smo ugotovili, da se večina vitamina C pri poru ohrani.

Že na začetku, preden sva opravili vse raziskave, sva postavili hipoteze.

Prva hipoteza, da liofilizirana živila ne izgubijo barve, je pravilna. Najbolj se to vidi pri jajcih, saj so sveža zamrznjena jajca popolnoma podobna liofiliziranimi. To lahko opazimo tudi pri borovnicah in poru.

To, da so borovnice od vseh liofiliziranih živil izgubile največ vode ne drži, saj so se ohranile v približno 13 %, por pa v 10 %. Druga hipoteza je tako ovržena.

Por je med liofilizacijo izgubil skoraj 90 % svoje teže, kar potrjuje neresničnost hipoteze, da por med liofilizacijo izgubi približno 50 % svoje teže. Tudi tretja hipoteza je ovržena.

Naslednja (četrta) hipoteza, da se jajca po liofilizaciji povrnejo v osnovno strukturo ob dodatku vode v takšnem sorazmerju, kot jo med liofilizacijo izgubijo, je pravilna, kar smo potrdili s preizkusom, pri kateremu so preizkuševalci potrdili, da so najboljša tista, kjer zmešamo 1 žlico liofiliziranih jajc in 1 žlico vode.

Peta hipoteza, da se občuti razliko med liofiliziranimi jajci, zmešanimi z vodo in svežimi jajci, ne drži. Preizkuševalci so rekli, da imajo jajca v razmerju 1:1 bolj podoben okus svežim, kjer pa je bilo dodano več vode, pa so imela jajca že bolj okus po postaranih jajcih.

Določanje vitamina C v šolskem laboratoriju ni mogoče, saj nimamo dostopa do pravih merilnih instrumentov. Lahko opravimo poskus jodometrične titracije, vendar kot že omenjeno, podatki niso le za vitamin C.

Za zadnjo, sedmo hipotezo, da se vitamin C v večini ohrani, pa lahko povemo, da je hipoteza pravilna, saj se ohrani okrog 80 %.

5 ZAKLJUČEK

Najprej sva si postopek določanja vitamina C predstavljal kot nekaj čisto preprostega. Jodimetrična titracija se ni zdela kot nek preveč zapleten poskus, dokler nisva prišli do tega, kjer smo zaznali napake. Načini redčenja so bili pri vsaki vrsti živila drugačni, zato nismo popolnoma vedeli, kako bi to sploh izračunali. Ko smo izračune na nek način opravili, so bile količine vitamina C popolnoma napačne. Možnosti so, da so tukaj tudi reagirali vsi antioksidanti, vendar je vseeno nekaj moralno biti narobe, saj so nam pri jodometrični titraciji prišli popolnoma drugačni rezultati. Iz tega poskusa smo lahko že že ne česa drugega ugotovili, da se določenih snoveh, kot v tem primeru vitamin C, ne da določiti tako preprosto v šolskem laboratoriju. Prav tako iskanje poskusa na internetu mogoče ni ravno najboljše, kajti že sama navodila poskusa niso bila najboljša. Če bi še kdaj opravljali kakšen poskus, za katerega ne poznamo postopka, je najbolje da to vprašamo koga, ki se ukvarja s tistim področjem.

Prav tako je zelo priročno, če imaš dostop do dobrih merskih instrumentov. Ko smo opravljali poskus jodometrične titracije, smo že imeli dostop do teh, vendar ti še vseeno niso bili pravi. Tudi poskus sam po sebi je bil bolj na nivoju, glede na to, da smo uporabili postopek poskusa napisanega v maturitetnem učbeniku za kemijo.

Zadnji poskus določanja vitamina C, tekočinska kromatografija, je bil še najbolj pravilen. Postopek poskusa je bil zaposlenemu na Fakulteti za kemijo in kemijsko tehnologijo znan, zato s tem nismo imeli večjih težav.

S tem ko smo liofilizirali in poskusili določene liofilizirane izdelke, sva zaznali uporabnost takšnih živil. Ta živila so lahka, zaradi česar pa je uporabna tudi za na različne pohode in seveda za v vesolje. Ugotovili smo, da se v povprečju ohrani okoli 78 % antioksidantov, kar je zelo dobro, saj med zaužitjem liofilizirane hrane pridobimo zadostne količine ne samo antioksidantov, temveč vseh potrebnih snovi za življenje. Okus je precej podoben okusu svežih živil, kar smo dokazali tudi z jajci, poizkusili pa smo tudi liofilizirane borovnice in to zaznali tudi tam. Tudi to je razlog, da so liofilizirana živila del vsakdanje prehrane astronautov v vesolju.

Kadar imamo preveč sadja ali zelenjave, jih lahko liofiliziramo, in živila boda ostala dobra in užitna še dolgo časa. Če se bo kdaj pojavila lakota, bomo lahko to liofilizirano hrano shranili za takrat.

6 VIRI IN LITERATURA

Teorija:

Freeze-Dried Foods Nourish Adventurers and the Imagination | NASA Spinoff. (n.d.). https://spinoff.nasa.gov/Spinoff2020/cg_2.html, pridobljeno 15. oktobra 2023.

Wikimedie, S. P. (2023, July 15). *Liofilizacija*. Wikipedija, Prosta Enciklopedija. <https://sl.wikipedia.org/wiki/Liofilizacija>, pridobljeno 27. novembra 2023.

Bjelošević Žiberna, M., & Ahlin Grabnar, P. (2021). Pomen liofilizacije v farmaciji = Importance of lyophilisation in pharmacy. *Farmacevtski vestnik*, 72(3), 159–166. <http://www.dlib.si/details/URN:NBN:SI:doc-6YJAQEZN>, pridobljeno 10. novembra 2023.

Wikimedie, S. P. (2019, April 4). *Sublimacija*. Wikipedija, Prosta Enciklopedija. <https://sl.wikipedia.org/wiki/Sublimacija>, pridobljeno 17. novembra 2023.

Jajca. Prehrana. <https://prehrana.si/clanek/263-jajca>, pridobljeno 23. novembra 2023.

Lavriša, I. (2023, June 21). *Borovnice*. Prehrana. <https://www.prehrana.si/clanek/531-borovnice>, pridobljeno 15. novembra 2023.

Kerin, D. (1993). *Vse o zelenjavi: sodobno pridelovanje, vzimljanje in zamrzovanje zelenjave s slastnimi recepti za vsak dan* (1. izd., Let. 18, str. 182). Obzorja.

Bogataj, N. & Režen, L. *Malo denarja ... Malo barve*. Žiri, Osnovna šola Žiri, 2020

P. (2019, September 4). *Razlike med belo in modro gozdno borovnico*. Prehrana. <https://www.prehrana.si/novica/137-razlike-med-belo-in-modro-gozdno-borovnico?highlight=WJhbnRvY2lhbmuaSJd>, pridobljeno 7. novembra 2023.

Kaj nam pove barva sadja in zelenjave - Kresnik. (n.d.). Kresnik.eu. https://www.kresnik.eu/kaj-nam-pove-barva-sadja-in-zelenjave_clanek_854.html, pridobljeno 10. oktobra 2023.

S. (2019, June 7). *Če je rumenjak pri trdo kuhanem jajcu obarvan zeleno, pomeni da... Spoznajprehrano.* <https://www.spoznajprehrano.com/post/2017/11/30/%C4%8De-je-rumenjak-pri-trdo-kuhanem-jajcu-obarvan-zeleno-pomeni-da>, pridobljeno 15. novembra 2023.

Lavriša, I. (2023, June 21). *Borovnice*. Prehrana. <https://www.prehrana.si/clanek/531-borovnice>, pridobljeno 7. novembra 2023.

Por - Portal prehrana - Inštitut za nutricionistiko. (n.d.). <https://www.nutris.org/prehrana/zivila-meseca/jesen/89-por-2.html>, pridobljeno 12. decembra 2023.

Jajca. Prehrana. <https://prehrana.si/clanek/263-jajca>, pridobljeno 15. novembra 2023.

Slike:

LIOFILIZACIJA – prihodnost zdrave prehrane / Nuts. (2021, March 14). <https://www.sis-nuts.si/blog/2021/03/14/liofilizacija-prihodnost-zdrave-prehrane/>, pridobljeno 8. januarja 2024.

E. (2023, September 4). *Sušenje živil in liofilizacija.* Prehrana. <https://prehrana.si/clanek/641-susenje-in-liofilizacija>, pridobljeno 10. januarja 2024.

Voda prvič kotirana na borzi » Noviglas. (2021, January 7). Noviglas. <https://www.noviglas.eu/voda-prvic-kotirana-na-borzi/>, pridobljeno 16. januarja 2024.

Kako prepoznati sveže domače jajce. (n.d.). siol.net. <https://siol.net/trendi/radi-imamo-domace/kako-prepoznati-sveze-domace-jajce-419874>, pridobljeno 20. januarja 2024.

Borovnice (Vaccinium myrtillus). (n.d.). <https://www.futunatura.si/borovnice>, pridobljeno 15. januarja 2024.

Por: Svež poleti in pozimi. (n.d.). Dnevnik. <https://www.dnevnik.si/1042860323>, pridobljeno 20. januarja 2024.

Ogrin, J. (2020, March 11). *Vpliv jajc na zdravje.* Spoznajprehrano. <https://www.spoznajprehrano.com/post/vpliv-jajc-na-zdravje>, pridobljeno 20. januarja 2024.