Региональная конференция по научно-техническому творчеству школьников «Лабиринты науки».
Тематическая секция конференции: БИОТЕХНОЛОГИИ

Государственное образовательное автономное учреждение дополнительного образования Ярославской области Центр детско-юношеского технического творчества,
Детский технопарк «Кванториум»
Объединение Наноквантум

Исследовательский проект: «Спасаем клубнику!»

Возрастная группа 2 (8-9 класс)

Вачина Ульяна Викторовна, дата рождения 13.12.2009,
ученица МОУ СОШ №29, 8 класс.

Наставник: **Бахтина Ирина Анатольевна**, педагог дополнительного образования Детского технопарка «Кванториум».

г. Рыбинск, 2022-2023

Оглавление

Глоссарий 3 стр

Актуальность. Цель. Задачи. Гипотеза. 3 стр

1. Методы исследования 4 стр
2. Используемые материалы 5 стр
3. О клубнике 5 стр
4. Выбор компонента для обработки клубники, определение эффективности и концентрации. 6 стр

5. Определения эффективности кислот 7 стр

6. Ход работы. 8 стр

7. Выводы и рекомендации 10 стр

Список использованных источников 11 стр

Приложения: 12 стр

1. Методика калибровки pH-датчика 12 стр

2. Приготовление питательной среды БТН-агар для культивирования микроорганизмов. 12 стр

3. Нанесение образцов на питательную среду 13 стр

4. Фотоальбом 13 стр

Глоссарий

Аспирин - структурная формула C9H8O4 (Ацетилсалициловая кислота), Латинское название вещества Acidum acetylsalicylicum (род. Acidi acetylsalicylici). Белые мелкие игольчатые кристаллы или легкий кристаллический порошок без запаха или со слабым запахом, слабокислого вкуса. Мало растворим в воде при комнатной температуре, растворим в горячей воде, легко растворим в этаноле, растворах едких и углекислых щелочей.

pH – водоро́дный показа́тель (pH, от лат. pondus Hydrogenii — «вес водорода»; произносится «пэ-аш») — мера определения кислотности водных растворов. Ассоциирована с концентрацией ионов водорода, что эквивалентно активности ионов водорода в сильно разбавленных растворах. [2]

Клубника - народное название растений и ягод (точнее — ложных ягод) полуницы (земляники зелёной) (лат. Fragaria viridis, syn. Fragaria collina). Название произошло из-за шарообразных ягод от старорусского слова «клуб» — шаровидный, округлый. Клубника – ошибочное название земляники садовой. [3]

Бактериологический посев – это посев материала на питательные среды и выделение чистых культур микробов с их последующей идентификацией. При обнаружении патогенных микроорганизмов определяется чувствительность выделенных микроорганизмов к антибиотикам. [4]

Спанбонд (англ. spunbond, spunlaid) — название технологии производства нетканого материала из расплава полимера фильерным способом. Часто в профессиональной среде термином «спанбонд» обозначают также материал, произведённый по технологии «спанбонд». [5]

Актуальность

Вырастить богатый урожай - это одна из задач аграриев. После сбора урожая возникает проблемка сохранности урожая. Самое сложное в

сохранении урожая – это борьба с гниением корнеплодов и плесневению сочных плодов, а также борьба с грызунами и насекомыми-вредителями.

Потребность в сохранности сельхозпродукции на складах заставляет аграриев прибегать даже к самым неординарным методам. [6]

Цель работы:

Найти биотехнологичное средство для обработки ягод клубники, увеличивающие срок хранения и сохраняющее свежесть клубники без использования дополнительной упаковки.

Задачи:

- провести подбор растворов для увеличения сохранности ягод
- провести испытание растворов на физико-химические свойства
- провести био-эксперименты с выбранными растворами.

Гипотеза:

Мы предполагаем, что обработка раствором слабых кислот может увеличить срок хранения ягод клубники.

Объект исследования: способы сохранения урожая плодов и ягод.

Предмет исследования: испытания слабых кислот для сохранения плодов клубники садовой.

1. Методы исследования

Экспериментальный метод - наблюдение, сравнение и измерение в данной работе предполагает отличные результат и полученные данные.

Микробиологический посев - один из стандартных методов культивирования микроорганизмов на питательных средах, применяемый для культуральной диагностики в медицинской микробиологии, а также для исследования биохимических и биологических свойств в различных биотехнологических целях. В зависимости от содержания исследуемых бактерий в образце, проводят посев на плотные питательные среды (для получения изолированных колоний и определения чистоты культуры).

Оптическая микроскопия - это один из основных методов исследования во многих сферах науки. В нашей работе данный метод используется для более подробного исследования образцов.

pH –метрия для определения эффективности кислот.

2. Используемые материалы:

- свежая клубника,
- вода дистиллированная,
- бумажные полотенца (1 рулон),
- ватные палочки,
- химические стаканы,
- питательная среда БТН-агар для культивирования микроорганизмов,
- чашки Петри (стерильные),
- пинцеты стерильные,
- пестик и ступка (стерильные),
- перчатки, маски, халаты,
- свежеприготовленный сок из листьев Алое
- раствор аспирина (ацетилсалициловой кислоты - 2-ацетокси-бензойная кислота $C_9H_8O_4$) в концентрации 0,25% (0,5 г. на 200 мл H_2O)

Дополнительно: диджитал-камера, ноутбук, сотовый телефон (для видео фиксации), сухожаровой шкаф, термостат, вытяжной шкаф с кварцевой лампой.

3. О клубнике (садовая земляника)

Ягоды клубники наиболее полезны в свежем виде. Как и в других ягодах, в ней содержится много незаменимых нутриентов, кроме этого, она отличается низкой калорийностью. Этот фрукт имеет невысокий показатель гликемического индекса – 40 единиц, и его можно употреблять при диабете. Замороженная клубника теряет часть своих полезных свойств, но приносит гораздо больше пользы в сравнении с клубничным вареньем или джемом.

После тепловой обработки ягоды лишаются значительной части витаминов и минералов, и вбирают в себя большое количество сахара.

Свежая клубника – богатейший источник витаминов: А, В, С, Е и минералов (калий, фосфор, кальций, магний, кальций, железо, йод, марганец). Помимо этого, ягода содержит целый набор непитательных биологически активных составляющих (фенольные соединения), которые вместе оказывают синергетическое действие на организм, укрепляя здоровье и предотвращая развитие различных заболеваний. В частности, в клубнике есть эллаговая кислота и флавоноиды, среди которых антоцианы, катехины, кемпферол, кверцетин и прочее. [1]

4. Выбор компонента для обработки клубники, определение эффективности и концентрации.

Для сравнения воздействия на собранный урожай для эксперимента будем использовать три жидкости: вода (дистиллированная), сок Алое-Вера и раствор слабой кислоты. Выбор жидкостей обусловлен следующим:

- Привычно собранный урожай ягод мы перед употреблением промываем чистой водой. Достаточно ли этого для увеличения срока хранения собранного урожая?
- Во многих источниках указывают, что сок Алое – обладает антисептическим свойством. [7] Проверим действие сока на сохранность урожая клубники.
- Для большинства микроорганизмов оптимальны значения реакции среды около pH=7,0. Очень кислая или очень щелочная реакции обычно токсичны для бактерий. Предельные ее значения, выше и ниже которых известные в настоящее время микроорганизмы прекращают рост и размножение, приблизительно равны pH=1,0 и pH=11,0. При pH=1 могут существовать лишь немногие бактерии и грибы.

Кислотность среды, в которой обитают микроорганизмы, оказывает на них большое влияние. Это один из наиболее важных факторов, определяющих рост и размножение микроорганизмов.

Для определения эффективного вещества мы выбрали доступные слабые кислоты: ацетилсалициловая кислота, аскорбиновая кислота и лимонная кислота.

Для определения оптимальной концентрации и эффективности воздействия приготовили растворы кислот с разной концентрацией и провели следующие исследования:

- Определение pH растворов:

Для определения кислотности произведена калибровка pH-метра Hanna (методика в приложении) и произведен 3-х кратный замер растворов кислот одинаковой концентрации (0,25%), результаты сведены в таблицу и вычислено среднее арифметическое значение. (Таблица 1)

Таблица 1: Значение показателей pH в растворах

Кислоты:	Ацетилсалициловая кислота	Аскорбиновая кислота	Лимонная кислота
1 замер, pH	1,84	2,60	2,45
2 замер, pH	1,91	2,71	2,48
3 замер, pH	1,87	2,67	2,47
Среднее значение pH	1,87	2,65	2,47

Вывод: На основании измерения водородного показателя, наиболее кислой средой обладает раствор ацетилсалициловой кислоты.

5. Определения эффективности кислот

Для определения эффективности приготовим раствор каждой кислоты по три концентрации на 100 мл будущего раствора, для простоты используем 0,05-0,1-0,25 % концентрацию. Далее делаем бактериологический посев с использованием этих растворов, которыми пропитали кусочки спанбонда.

Для посева мы приготовили питательную среду с агар-агаром. Смешали несколько колоний ранее высеянных микробов (фото 2): стафилококков, стрептококков, Грам положительных и отрицательных палочек и микробную суспензию нанесли на подготовленные среды. Поместили кусочки спанбонда, пропитанные аспирином, лимонной,

аскорбиновой кислотами разных концентраций. Выдержали в термостате при Т=30^{0}С три дня. С помощью Digital Camera осмотрели поверхности во всех чашках Петри. (Фото 3.)

Таблица 2: Эффективность воздействия кислот на рост микроорганизмов.

Кислоты:	Ацетилсалициловая кислота	Аскорбиновая кислота	Лимонная кислота
Концентрация 0,05 %	Слабый рост отдельных колоний	Слабый рост отдельных колоний	Слабый рост отдельных колоний
Концентрация 0,1 %	Единичный рост	Слабый рост отдельных колоний	Единичный рост
Концентрация 0,25%	Отсутствует рост	Единичный рост	Единичный рост

Вывод: На основании двух исследований дальнейшую обработку клубники проводим раствором Аспирина (ацетилсалициловой кислотой) в концентрации 0,25%, так как данный раствор обладает противомикробным действием.

6. Ход работы

6.1. Изучение правил техники безопасности при работе в химической лаборатории, правил техники безопасности при работе с микроорганизмами, правил техники безопасности при работе с химическими веществами.

6.2. Подготовили химическую посуду: промыли моющим средством, просушили, простерилизовали в сухожаровом шкафу при Т=180^0 время 30 мин.

6.3. Приготовили 3 стакана: с водой, соком Алое, 0,25% раствором аспирина (фото 4).

6.4. Приготовили бумажные салфетки для обсушивания ягод, стерильные чашки Петри, подписали всё.

6.5 Ягоды разделили на 3 группы и обрабатывали их в 3 средствах. Раскладывали по 4 штуки в соответствующие чашки Петри (фото 5).

6.6. Наблюдения

Таблица 3. Количество клубники без признаков плесени.

	Количество клубники без признаков плесени в контейнере из 12 ягод клубники																				
День Наблюдения	день 1			день 2			день 3			день 4			день 5			день 6			день 7		
	Вода	Сок Алоэ	Аспирин	Вода	Сок Алоэ	Аспирин	Вода	Сок Алоэ	Аспирин	Вода	Сок Алоэ	Аспирин	Вода	Сок Алоэ	Аспирин	Вода	Сок Алоэ	Аспирин	Вода	Сок Алоэ	Аспирин
Опыт 1	4	4	4	4	4	4	4	2	4	2	0	4	0	0	4	0	0	4	0	0	1
Опыт 2	4	4	4	4	4	4	4	1	4	2	0	4	0	0	4	0	0	3	0	0	0
Опыт 3	4	4	4	4	4	4	4	1	4	1	0	4	0	0	4	0	0	4	0	0	1
Всего	12	12	12	12	12	12	12	4	12	5	0	12	0	0	12	0	0	11	0	0	2

Гистограмма 1. Количество клубники без признаков плесени.

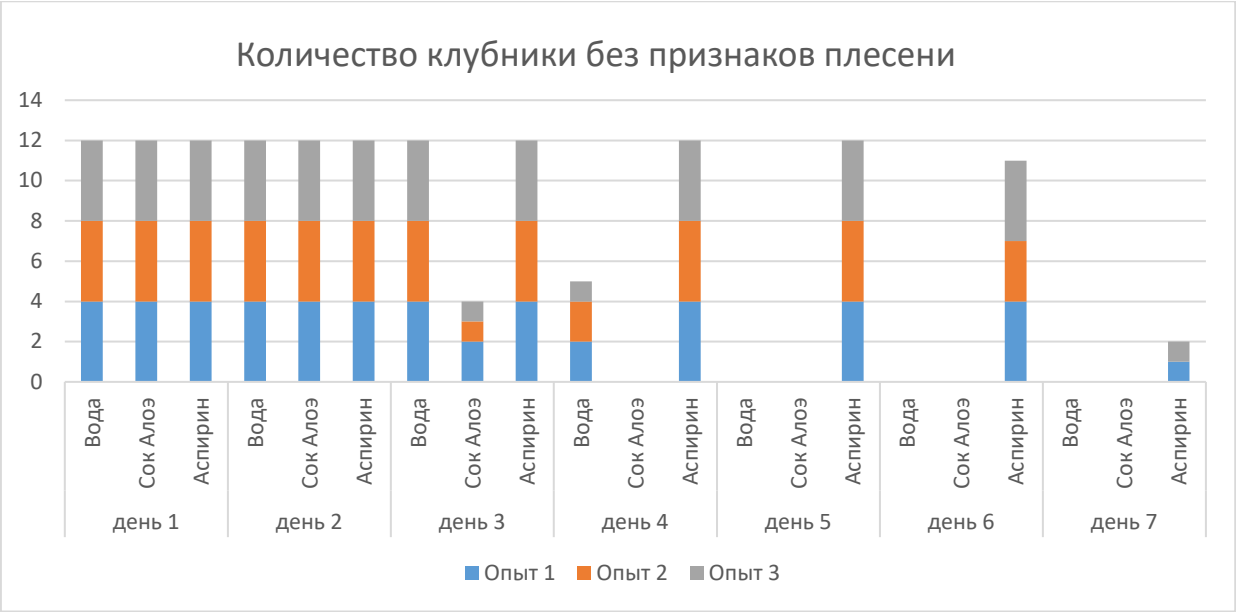


Таблица 2. Дополнительные наблюдения.

День Наблюдения	День 1			День 2			День 3			День 4			День 5			День 6			День 7		
	Вода	Сок Алоэ	Аспирин	Вода	Сок Алоэ	Аспирин	Вода	Сок Алоэ	Аспирин	Вода	Сок Алоэ	Аспирин	Вода	Сок Алоэ	Аспирин	Вода	Сок Алоэ	Аспирин	Вода	Сок Алоэ	Аспирин
Опыт 1	Ягоды дали сок, запах аппетитный, Ягоды блестящие			Ягоды дали сок, запах аппетитный, Ягоды блестящие			Ягоды утратили тургор, потеряли блеск.	Запах плесени. Видимый налет плесени	Запах приятный, ягоды блестящие	Запах гнилостный, на отдельных ягодах плесень	Ягоды полностью покрыты плесенью	Запах приятный, ягоды блестящие	Ягоды испортились, шуба плесени.		Запах приятный, ягоды блестящие	Ягоды испортились, шуба плесени.		Появились точечные очаги плесени на 1 ягоде	Ягоды испортились, чашки полностью заполнены плесенью		Во всех чашках появилась плесень.
Опыт 2																					
Опыт 3																					

Результаты наблюдения:

- Через 1 сутки на ягодах не обнаружено признаков плесени, гнили. Запах приятный сладковатый, ароматный. Ягоды дали сок, из-за травматизации их пинцетом.
- Через 2 суток на ягодах не обнаружено признаков плесени, гнили. Запах приятный сладковатый, ароматный, ягоды во всех чашках блестящие.
- Через 3 суток в чашках с ягодами, обработанными соком алоэ, появилась плесень, на 4-х из 12.
- Через 4 дня наблюдений в чашках с ягодами, обработанными водой наблюдается рост плесени, что хорошо видно на снимках диджитал-камеры. В чашках с обработкой соком алое наблюдается рост плесени по всей поверхности ягод на всех 12 ягодах. На 5 ягодах, обработанных водой, появились очаги роста плесени. Ягоды, обработанные аспирином, остаются чистыми, блестящими, приятно ароматными.
- На 5 день в чашках с ягодами, обработанными водой и соком алое -плесень. Ягоды, обработанные аспирином, остаются чистыми, блестящими, но запах уже не аппетитный.
- Через 6 дней ягоды, обработанные водой и соком алое окончательно испортились, пахли плесенью, гнилью. На 1 ягоде из 12, обработанных аспирином, появился мелкоточечный очаг роста плесени.
- На 7 день наблюдений почти на всех ягодах, обработанных аспирином появилась плесень в виде мелкоочагового, точечного обсеменения мицелием плесени.

6. Выводы и рекомендации

Для обработки ягод клубники, для лучшего их сохранения, не следует использовать воду. Ягоды лучше сохраняются в сухом виде. Не зря рекомендуется собирать ягоды сухими, нельзя собирать с росой и после дождя.

Сок алое мы не рекомендуем для целей дезинфекции. Плесень благополучно развивалась на поверхности, и скорее всего сок алое стал отличным субстратом для ее роста.

В нашем эксперименте 0,25% раствор ацетилсалициловой кислоты стал эффективным способом для обработки ягод клубники, для более долгого хранения. Но мы рекомендуем не погружать ягоды в раствор, а равномерно распылять раствор на ягоды и упаковку с последующей просушкой проточным воздухом.

Список использованных источников:

1. Платформа бизнес-данных [Электронный ресурс] – Режим доступа: https://edaplus.info/produce/strawberry.htm Дата доступа: 28.01.2023
2. Платформа бизнес-данных [Электронный ресурс] – Режим доступа: https://ru.wikipedia.org/wiki/%D0%92%D0%BE%D0%B4%D0%BE%D1%80%D0%BE%D0%B4%D0%BD%D1%8B%D0%B9_%D0%BF%D0%BE%D0%BA%D0%B0%D0%B7%D0%B0%D1%82%D0%B5%D0%BB%D1%8C Дата доступа: 28.01.2023
3. Платформа бизнес-данных [Электронный ресурс] – Режим доступа: https://yandex.ru/search/?text=%D0%BA%D0%BB%D1%83%D0%B1%D0%BD%D0%B8%D0%BA%D0%B0+%D1%8D%D1%82%D0%BE+%D1%87%D1%82%D0%BE&lr=10839&clid=2224314&src=suggest_B Дата доступа: 28.01.2023
4. Платформа бизнес-данных [Электронный ресурс] – Режим доступа: https://yandex.ru/search/?text=%D0%B1%D0%B0%D0%BA%D1%82%D0%B5%D1%80%D0%B8%D0%BE%D0%BB%D0%BE%D0%B3%D0%B8%D1%87%D0%B5%D1%81%D0%BA%D0%B8%D0%B9+%D0%BF%D0%BE%D1%81%D0%B5%D0%B2+%D1%8D%D1%82%D0%BE&lr=10839&clid=2224314&src=suggest_B Дата доступа: 28.01.2023
5. Платформа бизнес-данных [Электронный ресурс] – Режим доступа: https://ru.wikipedia.org/wiki/%D0%A1%D0%BF%D0%B0%D0%BD%D0%B1%D0%BE%D0%BD%D0%B4 Дата доступа: 28.01.2023
6. Платформа бизнес-данных [Электронный ресурс] – Режим доступа: https://www.agroxxi.ru/zhurnal-agromir-xxi/novosti/kak-sohranit-urozhai-bez-poter-reshenie-est.html Дата доступа: 28.01.2023

7. Платформа бизнес-данных [Электронный ресурс] – Режим доступа: https://agronom.guru/tsvetyi/komnatnyie-rasteniya/aloeh-lechebnye-svojstva-i-protivopokazaniya Дата доступа: 28.01.2023

Приложения:

1. Методика калибровки pH-датчика.

1. Достать электрод из защитного резервуара.
2. Промыть мембрану дистиллированной водой из промывалки.
3. Опустить электрод в первый буферный раствор.
4. Запустить интерфейс для определения числового значения.
5. Определить Ph в буферном растворе.
6. Откалибровать в соответствии со значением буферного раствора.
7. Промыть мембрану дистиллированной водой.
8. Опустить электрод во второй буферный раствор. Определить pH.
9. Откалибровать в соответствии со значением буферного раствора.
10. Промыть мембрану дистиллированной водой.
11. После каждого определения необходимо производить промывание
12. мембраны дистиллированной водой из промывалки.

2. Приготовление питательной среды БТН-агар для культивирования микроорганизмов.

1. Взвешивание: отбирают навески компонентов питательной среды на аналитических весах: 40,0 гр. на 1л. Воды.

2. Растворение: компоненты питательной среды растворяют в предварительно нагретой до 70 °С дистиллированной воде.

3. Кипячение: растворы питательных сред кипятят на водяной бане в течении 2 мин. (или до полного растворения).

4. Установление pH: ориентировочно производят с помощью индикаторной бумаги, для точного определения пользуются pH-метром. Значение pH оптимально должно быть 6,5 (Плотность этих сред при pH ниже 6,0 и выше 7,0 уменьшается, и они плохо застывают). При стерилизации pH снижается на 0,2, поэтому сначала готовят более щелочной раствор.

5. Фильтрация жидких и расплавленных плотных сред производят через через ватно-марлевый фильтр.

6. Розлив сред: питательные среды разливают не более чем на 3/4 емкости, так как при стерилизации могут намокнуть пробки и среды утратят стерильность.

7. Стерилизация: для стерилизации питательных сред используют термический способ в сухожаровом шкафу при $T=121^0C$ в течение 20 мин.

3. Нанесение образцов на питательную среду

1. Обмакните ватную палочку в раствор;
2. Аккуратно, стараясь не повредить поверхность среды, нанесите образец на поверхность одной секции чашки Петри;
3. Поместите чашки Петри с нанесенными образами в темное место на 3-7дней.

4. Фотоальбом

Фото 1: замер водородного показателя (pH).



Фото 2 Подготовленные колонии бактерий и грибов.

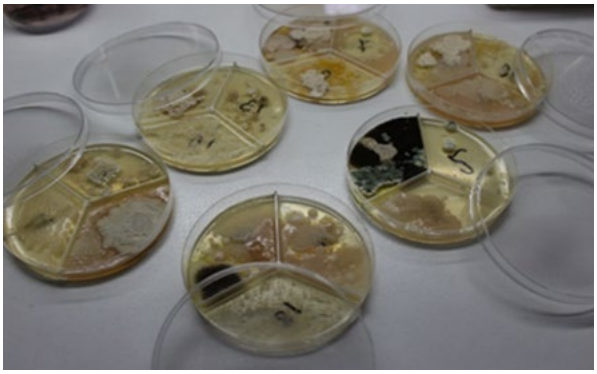


Фото 3 Работа с Digital камерой



Фото 4 Подготовка исследуемых материалов



Фото 5 Опытные образцы клубники для наблюдений

