



УДК 543.555.4+543.556.4+543.544.5.068.7

ОПРЕДЕЛЕНИЕ КИСЛОТНОСТИ НЕКОТОРЫХ ПЛОДОВ, СОКОВ И ПРОХЛАДИТЕЛЬНЫХ НАПИТКОВ

И.П. Анисимович**Р. Отман****Л.А. Дейнека****В.И. Дейнека****Л.В. Волощенко**

*Белгородский государственный
национальный исследовательский
университет*

e-mail: deineka@bsu.edu.ru

В работе новая методология определения параметров кислотности (титруемой, общей и средней основности кислот) методами титриметрии с двумя электрохимическими датчиками (надежность которой подтверждена методом ВЭЖХ) применена для анализа некоторых наиболее распространенных плодов, соков и газированных напитков. Полученная информация может быть использована для определения качества продуктов и для установления в некоторых случаях фальсификации без использования труднодоступного оборудования.

Ключевые слова: титруемая и общая кислотность, соки, напитки, органические кислоты, титриметрия, потенциометрия, кондуктометрия, ВЭЖХ.

Органические карбоновые кислоты относятся к важнейшим компонентам клеток живых объектов – растительного и животного происхождения, они могут находиться как в свободном состоянии, так и в виде солей. В некоторых растениях их общее содержание превышает количество белков и углеводов [1]. Самую большую группу органических кислот составляют водорастворимые кислоты, определяющие в конечном итоге кислотность и конечного продукта переработки растительного материала.

Одной из причин наличия большого количества органических кислот в растениях является их участие в цикле Кребса, т.е. в дыхании растений и в биосинтезе различных соединений [2]. К водорастворимым карбоновым кислотам природного происхождения кроме основных кислот цикла Кребса (лимонной, изолимонной, янтарной, фумаровой и яблочной) можно отнести щавелевую кислоту (как продукт метаболизма глюкозы [3]), аскорбиновую, уксусную, шикимовую и хинную кислоты.

Органические кислоты, содержащиеся в плодах, активизируют деятельность пищеварительных желез и тем самым способствуют лучшему усвоению организмом различной пищи. Они важны при целом ряде заболеваний, сопровождающихся пониженной желудочной кислотностью. Это объясняется тем, что органические кислоты отчасти компенсируют недостаток соляной кислоты желудочного сока. В фармацевтической промышленности органические кислоты используются как антиоксиданты, консерванты и подкисляющие вещества.

Одним из самых распространенных продуктов переработки плодов и овощей являются соки. Правила проведения сертификации пищевых продуктов и продовольственного сырья, утвержденные постановлением Госстандарта России 28 апреля 1999 г. № 21, содержат таблицу «Показатели и нормы для контроля фальсификации плодовых и ягодных соков» с показателями двух групп: А — обязательные для выполнения требования к качеству и В — критерии для оценки натуральности сока и его соответствия своему наименованию. В группу А входят плотность материала, содержание летучих кислот (в пересчете на уксусную), г/л, отсутствие D-яблочной кислоты, концентрация L-аскорбиновой кислоты и др. К группе В относят титруемую кислотность (до pH = 8,1), мэкв, содержание лимонной и D-изолимонной кислот, мг/л (и их соотношение), содержание L-яблочной кислоты, г/л, а также содержание калия, магния, натрия, кальция, мг/л, глюкозы и фруктозы, г/л, пролина, мг/л, формальное число и др.



Основными видами фальсификации безалкогольных напитков являются ассортиментная и квалиметрическая. При ассортиментной фальсификации предоставляется недостоверная информация о групповой принадлежности напитка: за соки выдаются нектары и сокосодержащие напитки и т.п. Квалиметрическая фальсификация — подделка товаров с помощью пищевых или непищевых добавок. Используемые при этом методы контроля достаточно просты для того, чтобы они могли быть выполнены в типовых лабораториях.

Однако набор органических кислот может быть весьма характеристичным для конкретного плода и получаемого из него сока. Поэтому эту характеристику можно использовать для определения чистоты сока. Например, виноградный сок содержит большое количество винной кислоты [4, 7], а яблочная кислота является основной органической кислотой яблок и яблочного сока [6]. При разбавлении яблочного сока водой концентрация яблочной кислоты снизится, а дополнительное подкисление (обычно) лимонной кислотой легко детектируется методом ВЭЖХ. Сок клюквы содержит в основном хинную, яблочную и лимонную кислоты [7], поэтому при обнаружении в нем измеримых количеств винной кислоты можно утверждать о фальсификации. При разбавлении соков, в том числе и сахарным сиропом, содержание кислот становится ниже. Отметим, что для лучшей сохранности требуется доводить кислотность соков до рН примерно равной 3, поэтому в некоторых случаях специальные добавки кислот неизбежны. Следовательно, методы, позволяющие определять каждую из водорастворимых карбоновых кислот, важны для контроля качества соответствующей продукции. Данная задача может быть решена с использованием высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ).

Большой удельный вес в питании человека занимают, так называемые, прохладительные напитки, в приготовлении которых кроме натуральных экстрактов используют добавки синтетических кислот — чаще лимонную или ортофосфорную. Кислоты играют вкусообразующую роль и служат консервантами, но при больших концентрациях даже, например, лимонная кислота (Е330) способна воздействовать на эмаль зубов и причинять болевые ощущения. Более опасна фосфорная кислота (Е338), которая способна связывать ионы кальция, вымывая его из костей, что приводит к развитию остеопороза и развитию мочекаменной болезни.

Во всем мире признанной оценкой кислотности анализируемого материала является титруемая кислотность. Эту характеристику рассчитывают по объему стандартного раствора щелочи, пошедшему на реакцию с кислотами анализируемого образца. Титруемая кислотность соответствует содержанию свободных кислот в образце, если при расчете использовать координаты точки эквивалентности на кривых потенциометрического титрования. Однако на практике при использовании потенциометрического титрования не находят точку эквивалентности, а ограничиваются титрованием до заданного заранее значения рН: 8.9» [8]; 8.30 ± 0.01 [9;10]; 8,2 [11]; 8,8 [4]. Кроме того, допускается и применение титрования с индикаторным (по фенолфталеину) определением окончания титрования [12]. Предопределенность конечного значения рН, рекомендуемая также и Ассоциацией Официальных Аналитиков США (титрование до рН = 8.1), несомненно, удобна для автоматических методов контроля.

Широкое распространение получили и хроматографические методы определения как качественного, так и количественного состава органических кислот в растительных материалах и продуктах их переработки [13 – 16], при которых анализируют непосредственно органические кислоты или их производные [17].

Материалы и методы исследования

Для титриметрического определения водорастворимых органических кислот использовали титрование аликвотного объема исследуемого образца стандартным раствором гидроксида натрия с использованием одного или двух электрохимических датчиков: стеклянного комбинированного электрода ЭСК-10601/7 (прибор рН-150М) и/или кондуктометрического датчика ДКВ-1 (прибор Анион 4100) в стек-



лянном стакане при непрерывном перемешивании смеси с использованием магнитной мешалки. Для катионного обмена использовали пропускание через колонку, заполненную подготовленным катионитом, аликвотных порций растворов с последующим исчерпывающим вымыванием дистиллированной водой (контроль по метиловому оранжевому). Все порции элюатов объединяли в стакане для последующего титрования.

Для экстрагирования органических кислот к навеске плодов (от 3 до 30 г) добавляли 50 – 200 мл дистиллированной воды; смесь выдерживали в течение получаса, периодически встряхивая, затем фильтровали через бумажный фильтр. Для ускорения процесса при необходимости использовали фильтрование при пониженном давлении (через воронку Бюхнера с использованием водоструйного насоса).

Для определения органических кислот хроматографическим методом чаще всего используют обращенно-фазовый вариант (ОФ ВЭЖХ) с октадецилсилановыми фазами [18].

В настоящей работе предложенным методом были определены титруемая, общая кислотность и средняя основность кислот некоторых, наиболее распространенных в нашей области фруктов с применением потенциометрического и кондуктометрического детектирования до и после пропускания через катионообменную колонку.

Результаты исследования и их обсуждение

В анализируемом образце растительного материала могут и должны находиться не только свободные кислоты, но и их соли, поскольку буферный характер клеточного сока определяет жизнеспособность живых объектов. А определение свободных кислот в таком случае является лишь односторонней и не полной оценкой буферной системы. Реальные объекты представляют собой буферные смеси кислот и их солей.

В настоящей работе были определены титруемая, общая кислотность и средняя основность кислот некоторых, наиболее распространенных в нашей области фруктов с применением потенциометрического и кондуктометрического детектирования до и после пропускания через катионообменную колонку [19, 20], табл. 1.

Таблица 1

Кислотность различных фруктов

Плоды	Кислотность г/100 г		% соли	Средняя основность
	титруемая	общая		
Малина	1.15*	1.43*	20	3.1
Земляника	0.83*	1.15*	28	2.84
Вишня	1.19**	1.64**	27	2.05
Войлочная вишня	0.5**	0.78**	36	2.05
Черешня	0.003-0.0035**	0.5**	39-43	2.03-2.05
Абрикос	0.008**	0.012**	32	2.5
Персик	0.008**	0.014**	41	2.3
Черная смородина	2.7*	3.2*	17	2.8
Виноград	0.23***	0.48***	52	2
Жимолость	0.96*	1.04*	7.7	3.1
Облепиха	1.44**	1.58**	7.1	2.2
Яблоко	0.22-0.76**	0.45-0.97**	23-51	2

* в пересчете на лимонную кислоту; ** в пересчете на яблочную кислоту; *** в пересчете на винную кислоту

Полученные выводы о средней основности суммы кислот были подтверждены прямым определением карбоновых кислот методом обращенно-фазовой ВЭЖХ, рис 1.

В табл. 2 суммированы результаты определения кислот в соках плодов описанными выше методами. Содержание кислот, определенное методом титрования после обработки ионообменной смолой лишь немногим превышает найденное по



концентрации трех основных кислот (яблочной, аскорбиновой и лимонной), хотя не все пики на хроматограммах были отнесены из-за отсутствия соответствующих стандартных образцов кислот. Поэтому и средняя основность суммы кислот образцов соков, определенная по комбинации потенциометрического и кондуктометрического титрования, с одной стороны и определенная по индивидуальному составу детектированных кислот, также совпадают удовлетворительно, подтверждая справедливость предложенного в работе титриметрического метода.

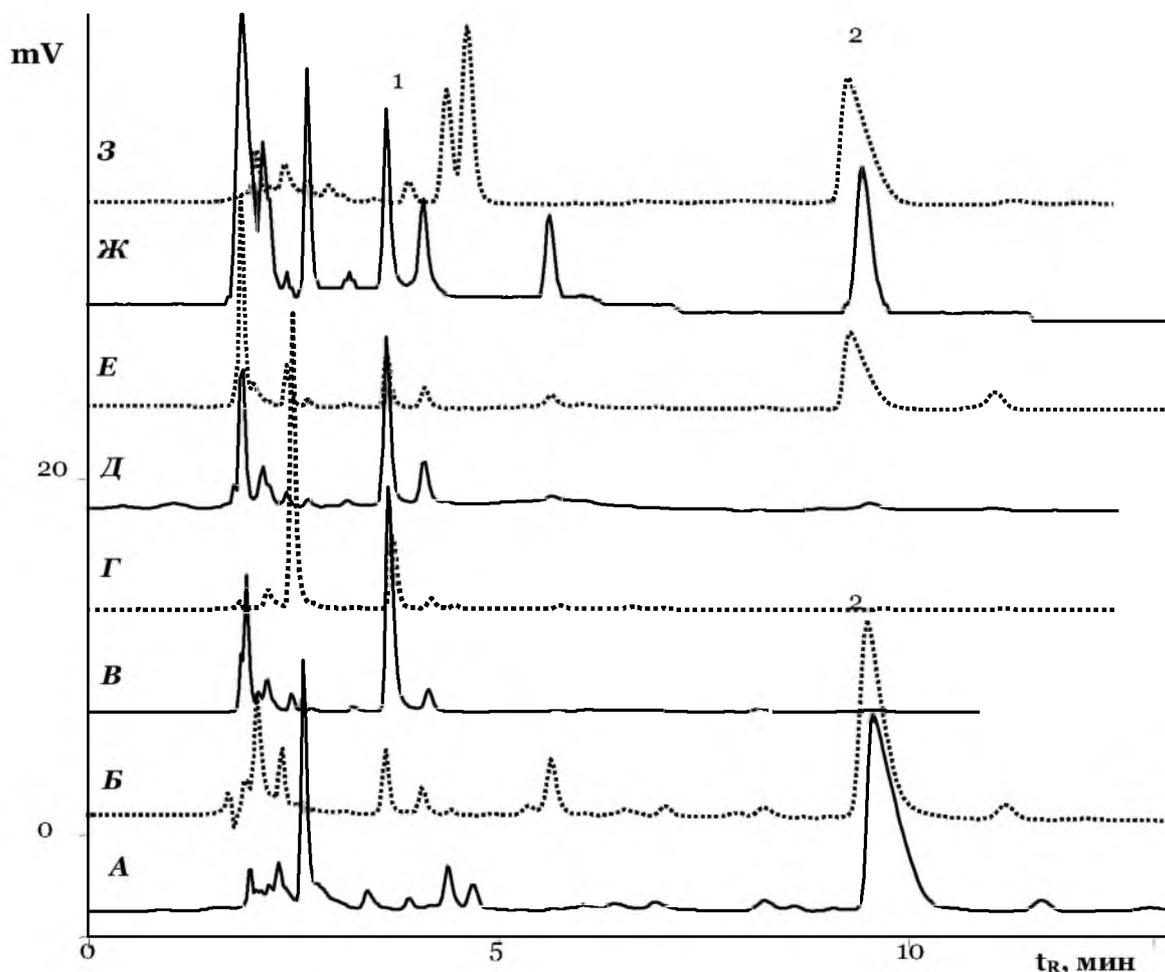


Рис. 1 ВЭЖХ водорастворимой фракции некоторых плодов

1 – яблочная кислота, 2 – лимонная кислота, Колонка 250x4 мм. Reprosil-pur C18-AQ в элюента 2 об.% ортофосфорной кислоты в воде при спектрофотометрическом детектировании (205 нм); А – малина, Б – земляника; В – вишня; Г – войлочная вишня; Д – черешня; Е – абрикос; Ж – персик; З – черная смородина.

В случае, например, вишневого сока, основность составляет примерно 2, указывая на то, что основная кислота сока – двухосновная. Поэтому, например, попытка фальсифицировать вишневый сок лимонной кислотой будет легко установлена без использования хроматографических методов с использованием значительно более доступных потенциометрического и кондуктометрического датчиков.

Как видно из данных, представленных в табл. 2, во всех случаях титруемая кислотность заметно выше после пропускания соков через катионообменную колонку. Это связано с тем, что значительная часть органических и возможно неорганических кислот находится в соках разных производителей в виде солей, поскольку в числе остальных соединений они обеспечивают постоянство рН для правильного функцио-



нирования ферментов – это новая информация, которая не может быть получена простым титрованием до заданного рН, но может быть легко получена в обычных лабораториях без значительных финансовых затрат.

Таблица 2

Кислотность суммы кислот для различных соков

Сок	Титруемая кислотность, г/л	Общая, г/л	Средняя основность суммы кислот
Грейпфрутовый*	10.2	12.8	3.0
Мандариновый*	8.5	12.1	2.8
Гранатовый *	16.3	20.3	2.8
Никитина усадьба красное яблоко**	4.5	6.5	2.0
Никитина усадьба зеленое яблоко**	5.1	6.9	2.1
4 сезона (яблочный) **	3.1	5.4	2.1
Любимый сад (яблочный) **	4.1	6.9	2.5
Я (яблочный) **	6.6	9.1	2.1
Сокок (яблочный) **	5.0	7.9	2.1
Моя семья (яблочный) **	6.3	7.9	2.1
Добрый (яблочный) **	6.3	8.5	2.2

* кислотность в пересчете на лимонную кислоту; ** кислотность в пересчете на яблочную кислоту.

Для идентификации органических кислот в яблочных соках использовали метод ВЭЖХ (рис. 2).

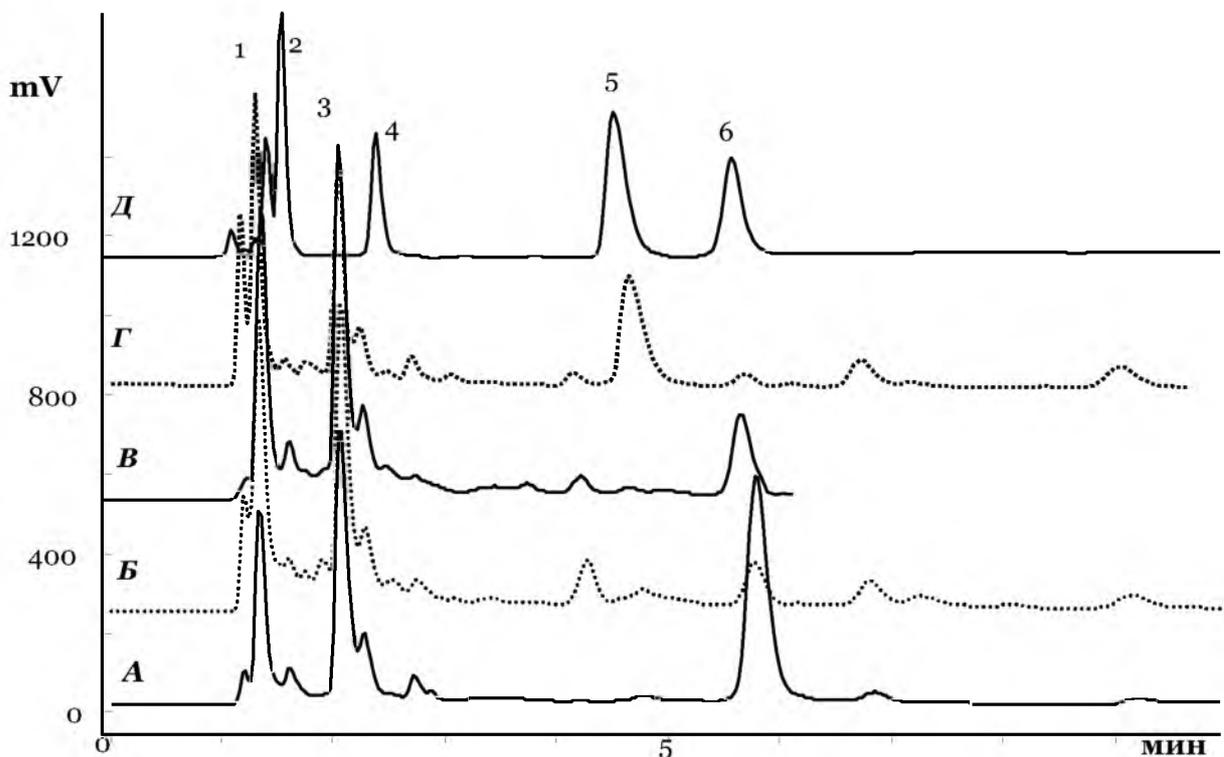


Рис. 2. Хроматограммы растворов яблочных соков различных марок
1 – щавелевая, 2 – яблочная, 3 – винная, 4 – молочная, 5 – лимонная (и янтарная), 6 – фумаровая кислоты. Марки соков: А – «Я», Б – «Сокок», В – «Моя семья», Г – «Любимый сад», Д – смесь кислот.

Так в яблочном соке марки «Любимый сад» обнаруживается значительное количество лимонной кислоты, а в соке «Я» ее место занимает фумаровая кислота, и обе присутствуют в незначительных количествах в соке «Сокок». И только одна из кислот, иден-



тифицируемая, как яблочная, присутствует во всех соках в сопоставимых количествах. Понятно, что технология приготовления соков при включении в производственную схему ферментативного расщепления пектинов, не может объяснить появления в соках лимонной и фумаровой кислоты. Следовательно, эти кислоты были добавлены для подкисления соков с целью улучшения эксплуатационных свойств. Из литературных данных [21] известно, что яблочная кислота, основная кислота яблочных соков, при длительном нагревании при 140-150°C может превращаться в фумаровую кислоту.

Таким образом, метод ВЭЖХ позволяет не только идентифицировать сок, но и обнаруживать особенности технологии его приготовления. Подкисление яблочных соков лимонной кислотой не противоречит технологии приготовления соков, но в данном случае о добавках посторонних кислот для подкисления соков должно сообщаться на товарных этикетках производителям, т.е. не вводить в заблуждение покупателей соков о 100 %-ном содержании в них натуральных компонентов яблок. На этикетках соков «Любимый сад», «Я» и «Сокос» никаких сообщений о добавлении лимонной кислоты для подкисления не приводится. Более того, сок «Я» содержит информацию на этикетке об отсутствии консервантов и красителей.

В прохладительных напитках допускается использование неорганических подкислителей – ортофосфорной кислоты («Coca-Cola», «Pepsi») и ее солей, серной кислоты и пр. По кривым потенциометрического титрования напитков до и после катионообменной колонки нами была рассчитана кислотность, табл. 3.

Таблица 3

Кислотность некоторых прохладительных

Название напитка	Pepsi light	Pepsi	Coca-cola light	Coca-cola	Coca-cola express
Титруемая кислотность (с CO ₂), г/л*	2.10	1.67	2.04	1.99	1.11
Титруемая кислотность**, г/л	0.67	0.67	0.63	0.68	0.67
Общая кислотность, г/л	0.93	0.77	1.10	0.98	0.77

* - в пересчете на ортофосфорную кислоту; ** - после удаления CO₂.

Для прохладительных напитков прямым потенциометрическим измерением были найдены следующие значения pH: от 2.41 до 3 до пропускания через катионит и от 2.17 до 2.34 после пропускания через катионообменную смолу.

В данном случае титруемая кислотность может включать не только те кислоты, которые были добавлены для регулирования кислотности, но и оксид углерода (IV), входящий в состав газированных напитков. Титруемую кислотность, приходящуюся на CO₂ определяли по разности результатов титрования напитков до и после прогрева, табл. 4.

Таблица 4

Кислотность напитка до и после удаления CO₂

Напиток	Кислотность напитка, ммоль/л					Параметры кислотности	
	Π, ν ₂	Κ, ν ₁ *	Π, ν ₂ *	Κ, ν ₁ **	Π, ν ₂ **		
	До удаления CO ₂	После удаления CO ₂				β	α
до катионного обмена		после катионного обмена					
Pepsi light	42.8	4.12	14.7	10.3	19.6	1.90	25.0
Pepsi	34.5	5.41	13.6	7.73	15.7	2.03	13.4
Coca-cola light	41.7	4.12	13.9	14.4	22.7	1.58	38.8
Coca-cola	40.7	4.89	13.9	11.9	22.7	1.91	38.8
Coca-cola express	22.7	5.92	13.9	8.24	15.7	1.91	11.5

Расчет по Π – потенциометрическим и Κ – по кондуктометрическим данным.

На основании полученных данных рассчитывали следующие параметры:

Среднюю основность кислот (определяют после удаления CO₂ и после пропускания через катионообменную колонку):



$$\beta = \frac{V_2^{**}}{V_1^{**}}$$

И среднюю долю солей:

$$\alpha = \frac{(V_2^{**} - V_1^{**})}{V_2^{**}} \cdot 100, \%$$

Кислотность растворов после удаления CO_2 остается достаточно высокой - при титровании наблюдаются две точки эквивалентности, первая из которых может соответствовать равновесию образования дигидроортофосфат ионов, а вторая - образованию гидроортофосфат ионов. При этом третья точка (образование ортофосфат ионов) титрования не детектируется.

Следовательно, напитки «Pepsi light», «Pepsi», «Coca-cola», «Coca-cola express» содержат ортофосфорную кислоту и ее соли, т.к. после пропускания через катионообменную колонку параметр β достигает значения, близкого к 2. Но для «Coca-cola light» этот параметр заметно ниже ($\beta = 1.6$), что может быть связано с добавлением в напиток соли сильной кислоты. Наибольшее значение параметра α для «Coca-cola» и «Coca-cola light» свидетельствует о добавлении соли слабой кислоты (ортофосфата натрия).

Выводы

Таким образом, в настоящей работе предложена новая методология, позволяющая получить дополнительную (по сравнению с традиционным методом [22, 23]) информацию, которая может быть использована не только для определения качества продуктов, но и для установления в некоторых случаях фальсификации без использования труднодоступного оборудования.

Список литературы

1. Анцупова Т.П., Ендонова Г.Б. Конспект лекций «Методы анализа биологически активных веществ» - изд-во ВСГТУ, Улан-Удэ - 2007г - 46 с.
2. Дэвис Д., Джованелли Дж., Рис Т. Биохимия растений. М.: Мир. - 1966. - 512 с.
3. Munir E., Yoon J.J., Tokimatsu T., Hattori T., Shimada M. A physiological role for oxalic acid biosynthesis in the wood-rotting basidiomycete *Fomitopsis palustris* // Proc. Nat. Acad. Sci. - 2001. - V.98. - P. 11126-11130.
4. Gomis B.D., Gutierrez M.J., Alvarez G.M.D., Medel S.A. High-Performance Liquid Chromatographic Determination of Major Organic Acids in Apple Juices and Ciders // Chromatographia. - 1987. - V.24. - P. 347-350.
5. Gorsel H., Li C., Kerbel E., Smits M., Kader A. Compositional Characterization of Prune Juice // J. Agric. Food. Chem. - 1992 - V.40. - P. 784-789.
6. Gomis D., Gutierrez M., Alvarez M., Alonso J. Application of HPLC to Characterization and Control of Individual Acids in Apple Extracts and Ciders // Chromatographia - 1988. - V.25. - P. 1054-1058.
7. Ryan J., Dupont J. Identification and Analysis of the Major Acids from Fruit Juices and Wines // J. Agric. Food. Chem. - 1973 - V.21 - № 1 - P. 45-49.
8. ГОСТ 3624-92. Молоко и молочные продукты. Титриметрические методы определения кислотности.
9. ГОСТ Р 51455-99. Йогурты. Потенциометрический метод титруемой кислотности.
10. Thangavelu S., Chiranjivi Rao K. Titratable acidity of juice of sugarcane genetic stocks and its association with other characters // J. Indian Sugar. - 1996. - V.46. - P. 391-396.
11. Ayala-Zavala J.F., Wang S.Y., Wang C.Y., González-Aguilar G.A. Methyl jasmonate in conjunction with ethanol treatment increases antioxidant capacity, volatile compounds and postharvest life of strawberry fruit // Eur. Food Res. Technol. - 2005. - V.221. - P. 731-738.
12. ГОСТ 5898-87. Изделия кондитерские. Методы определения кислотности и щелочности.
13. Badoud R., Pratz G. Improved high-performance liquid chromatographic analysis of some carboxylic acids in food and beverages as their p-nitrobenzyl esters // J. Chromatogr. A. - 1986. - V.360. - P. 119-136.



14. Yalcin D., Ozcalik O., Altiok E., Bayraktar O. Characterization and recovery of tartaric acid from wastes of wine and grape juice industries // *J. Therm. Anal. Calorimetry*. – 2008. – V.94. – P. 767–771.
15. Marce R.M., Calull M., Manchobas R.M., Borrull F., Rius F.X. An Optimized Direct Method for the Determination of Carboxylic Acids in Beverages by HPLC // *Chromatographia*. – 1990. – V.29. – P. 54–58.
16. Marconi O., Floridi S., Montanari L. Organic acids profile in tomato juice by HPLC with UV detection // *J. Food Quality*. – 2007. – V.30. – P. 43–56.
17. Miwa H.J. High-performance liquid chromatographic determination of mono-, poly- and hydroxycarboxylic acids in foods and beverages as their 2- nitrophenylhydrazides // *J. Chromatogr. A*. – 2000. – V.881. – P. 365–385.
18. Cunha S.C., Fernandes J.O., Ferreira I. HPLC/UV determination of organic acids in fruit juices and nectars // *Eur. Food Res. Technol.* – 2002. – V.214. – P. 67–71.
19. Зайцев В.Н., Кобылинская Н.Г., Костенко Л.С., Герда В.И. Кондуктометрическое определение концентрации кислотных центров на функционализированных материалах // *Ж. аналит. химии*. – 2008. – Т.63, №8. – С.852–857.
20. Рудаков О.В. Методы жидкостной хроматографии.- Воронеж.: Водолей, 2004. – 528 с.
21. Gurrieri F., Audergon J., Albagnac G., Reich M. Soluble sugars and carboxylic acids in ripe apricot fruit as parameters for distinguishing different cultivars// *Euphytica*. – 2001 – V.117 – P. 183–189.
22. Zadernowski R., Nacz M., Nesterowicz J. Phenolic acid profiles in some small berries // *J. Agric. Food Chem.* – 2005. – V.53. – P. 2118–2124.
23. Paško P, Sajewicz M., Gorinstein S., Zachwieja Z. Analysis of selected phenolic acids and flavonoids in *Amaranthus Cruentus* and *Chenopodium Quinoa* seeds and sprouts by HPLC // *Acta chromatographica*. –2008. –V.20. – P. 661–672.

DETERMINATION OF SOME FRUITS, JUICES AND BEVERAGES ACIDITY

I.P. Anisimovich
R.S. Othman
LA. Deineka
V.I. Deineka
L.V. Voloshenko

*Belgorod National Research
University*

e-mail: deineka@bsu.edu.ru

A new method for determination of acidity parameters (titrable, total and mean basicity of acid summ) by means of titration with two types of electrochemical electrodes (the validity of the method being proved by HPLC) has been applied for some common fruits, juices and beverages. The data were shown to be utilized for quality as well as for adulteration non expansive determination.

Key words: titrable and total acidity, juices, beverages, organic acid, titrimetry, potentiometry, conductometry, HPLC