

ОПРЕДЕЛЕНИЕ КИСЛОТНОСТИ СОКОВ ПЛОДОВ РАСТЕНИЙ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ ДВУХ ЭЛЕКТРОХИМИЧЕСКИХ ДАТЧИКОВ

**Л.А. Дейнека,
И.П. Анисимович,
Т.Г. Новоженова,
В.И. Дейнека**

Белгородский
государственный
университет

Россия, 308015, г. Белгород,
ул. Победы, 85

e-mail: deineka@bsu.edu.ru

Предложена технология исследования кислотного состава соков с использованием кислотно-основного титрования с двумя электрохимическими датчиками: потенциометрическим и кондуктометрическим. На примере титрования индивидуальных двух и трехосновных кислот в водных и в водно-спиртовых растворах обсуждены особенности анализа двух кривых титрования. Показано, что кондуктометрический датчик позволяет определять первую точку эквивалентности, а потенциометрический – последнюю. Это позволяет рассчитать основность титруемой кислоты или смеси. Для перевода солей буферной системы соков предлагается обработка образцов ионообменными смолами.

Ключевые слова: кондуктометрическое титрование, потенциометрическое титрование, органические кислоты, соки плодов

Введение

Кислотность во многом определяет свойства сложных водно-органических смесей живого происхождения вследствие способности ионов водорода, H^+ (или гидроксид-ионов, OH^-) катализировать жизненно-важные процессы. Соответственно, кислотность входит в число важнейших параметров, определяющих пищевкусовые свойства фруктов, овощей и из них полученных соков. Однако, вероятно, как ни с одним из других химических понятий, с кислотностью связано множество обоснованных и не очень обоснованных упрощений, – как в учебных курсах, так и в практике химических лабораторий. Нейтральным по определению является водный раствор, в котором концентрация ионов водорода (H^+) равна концентрации гидроксид-ионов (OH^-). Поэтому реакция раствора сильной кислоты с раствором щелочи, при которой и достигается это условие, называется реакцией нейтрализации. Но назвать нейтрализацией взаимодействие раствора слабой кислоты с раствором щелочи можно лишь условно – точка эквивалентности соответствует образованию раствора соли, имеющего щелочную реакцию. Следовательно, в этом случае нейтрализации соответствует не до конца доведенная реакция, а если титрование продолжают до достижения точки эквивалентности, то это уже не нейтрализация, а подщелачивание. Органические кислоты природного происхождения, содержащие преимущественно карбоксильные группы, относятся к слабым кислотам. Поэтому точка эквивалентности при титровании кислых водно-органических сред раствором щелочи находится в щелочной среде.

Цель настоящей работы – обсуждение особенностей определения кислотности в объектах на основе растительных материалов и обсуждение преимуществ титрования с использованием одновременно потенциометрического и кондуктометрического методов контроля процесса.

Экспериментальная часть

Титрование образцов проводили с одновременным использованием кондуктометрического и потенциометрического методов контроля процесса, используя приборы: Анион 4100 с кондуктометрическим датчиком ДКВ-1 и pH -150М со стеклянным комбинированным электродом при постоянном перемешивании раствора при помощи магнитной мешалки.

Для перевода солей в кислоты аликвотный объем сока пропускали через катионообменную смолу КУ-2×8 в H^+ форме (колонка со внутренним диаметром 1 см высотой 15 см).



Результаты и обсуждение

Кажется очевидным, что термин кислотность должен обозначать активность ионов водорода в исследуемой среде (ее называют **активной кислотностью**). Этот параметр может быть измерен, например, потенциометрическим методом с использованием стеклянного комбинированного электрода. Важность этого параметра бесспорна, но если в смеси присутствуют сильная и слабая кислоты, то возникают проблемы в смысловой оценке полученного результата. Очевидно, что именно смеси кислот присутствуют в соках плодов растений. Поэтому на практике используют другие характеристики, имеющие отношение к кислотности.

Во всем мире признанной оценкой кислотности анализируемого материала является **титруемая кислотность**. Эту характеристику рассчитывают по объему стандартного раствора щелочи, потребовавшегося 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 в действительности при использовании потенциометрического титрования не находят точку эквивалентности, а ограничиваются заданным заранее значением pH :

- 1) «... на нейтрализации кислот, содержащихся в продукте, раствором гидроксида натрия до заранее заданного значения $pH = 8.9$ » [1];
- 2) «... титруют содержимое стакана раствором гидроксида натрия до активной кислотности (8.30 ± 0.01) pH » [2];
- 3) «... титруют из бюретки раствором гидроксида натрия до значения $pH 8.1$ » [3].

Кроме того, допускается и применение титрования с индикаторным (по фенолфталеину) определением окончания титрования [1, 4]. Предопределенность конечного значения pH , рекомендуемая также и Ассоциацией Официальных Аналитиков США (титрование до $pH = 8.1$ [5]), несомненно, удобна для автоматических методов контроля. Как можно определить экспериментально, погрешности, вносимые различными положениями

точек окончания титрования, определяемых указанными выше условиями, не превышают 1% в относительных единицах (рис.1).

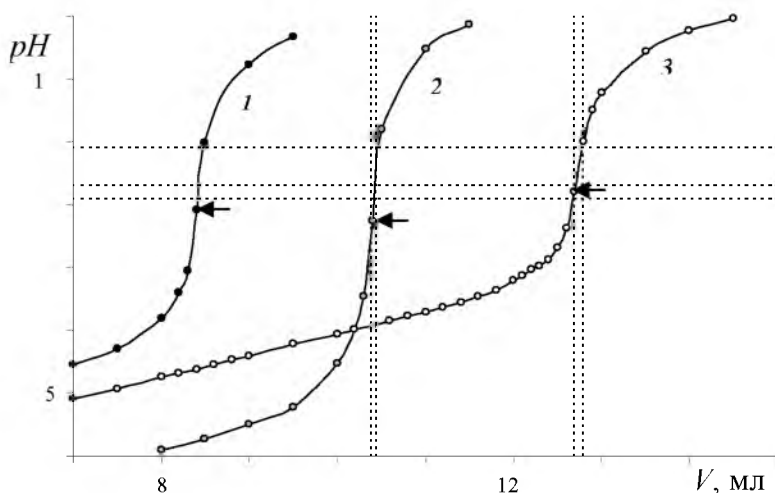


Рис.1. Кривые потенциометрического титрования органических кислот.

Растворы кислот: 1 – уксусной, 2 – щавелевой и 3 – лимонной. Стрелкой отмечена точка изменения окраски фенолфталеина

При титровании уксусной ($pK = 4.76$), щавелевой ($pK_1 = 1.25$; $pK_2 = 4.27$) и даже лимонной ($pK_1 = 3.13$; $pK_2 = 4.66$, $pK_3 = 6.40$ [6]) кислот все точки окончания титрования (по предложенным выше методам) оказываются достаточно близкими к истинным точкам эквивалентности. Тогда и при титровании смеси органических кислот, как реальной ситуации при анализе растительных образцов, все рассмотренные выше методы оценки окончания титрования будут приводить к близким (с расхождением не более 1%) и надежным результатам. Отметим, что основное различие между кривыми титрования наблюдается перед точкой эквивалентности (при меньших значениях pH): чем сильнее кислота (последняя стадия диссоциации), тем ниже расположена левая часть кривой титрования (т.е. тем меньше pH).

С другой стороны, в анализируемом образце 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. Однако, как

это ни странно, требования установления полной характеристики буферных систем (растительных соков) нами не обнаружены ни в иностранной, ни в отечественной литературе. Впрочем, известно большое число работ по определению вида и количества органических кислот (уже без учета их состояния в исходном образце) различными методами, включая ВЭЖХ (см., например, [7–9]), но в этих работах уже не идет речь о кислотности.

Один из классических – кондуктометрический – метод контроля процесса титрования используется в настоящее время в силу различных причин не часто. В этом плане любопытен подход, основанный на исследовании проводимости растворов образцов при значительном разбавлении (до 300 раз) [10]. А, например, в недавно опубликованной работе [11] было обращено внимание на ряд преимуществ кондуктометрического метода контроля титрования по сравнению с потенциометрическим.

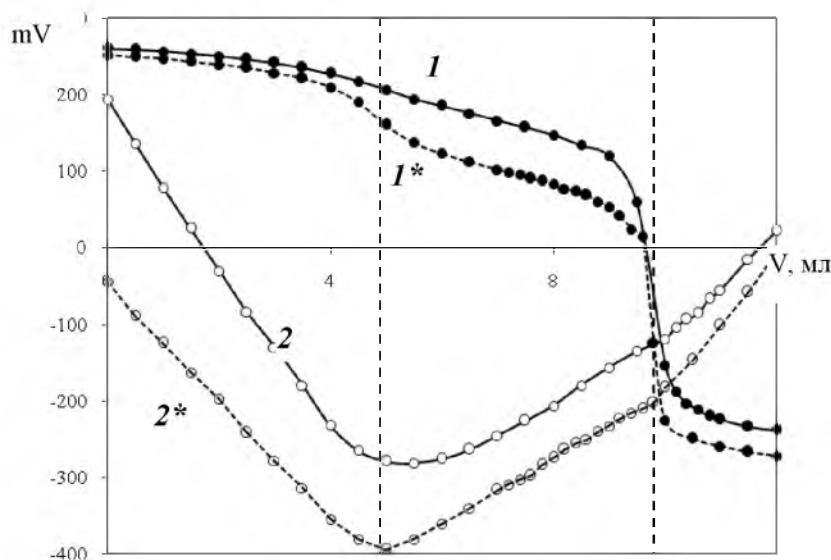
Классическое использование кондуктометрического датчика, как было найдено в настоящей работе, в сочетании с одновременным потенциометрическим контролем кислотно-основного титрования обладает рядом преимуществ. Кондуктометрические и потенциометрические кривые титрования растворов сильной кислоты раствором щелочи взаимно заменяемы. Замена сильной кислоты на слабую приводит к отклонению экспериментальных точек в начальной части кривой титрования (тем больше, чем больше степень диссоциации кислоты) от прямой линии, точка пересечения которой с другой линией, построенной по следующему набору данных, используется для нахождения точки эквивалентности [12]. При переходе к многоосновным органическим кислотам одновременное использование двух электрохимических методов контроля выявляет ряд важных особенностей.

Среди двухосновных карбоновых кислот растительных объектов наиболее часто встречаются винная, яблочная, щавелевая и фумаровая. При титровании наиболее сильной из них – щавелевой кислоты (рис.2), в водном растворе четко обозначается скачок потенциала, соответствующий полному протеканию реакции по второй стадии, в то время как первая точка эквивалентности едва заметна. Кондуктометрический датчик, напротив, показал четкий излом кривой для первой точки эквивалентности, а обнаружение второй точки эквивалентности осложнено нестабильностью экспериментальных данных (приборным шумом). Замена чисто водного раствора на водно-этанольный (соотношение 1:1) лишь немногим улучшает параметры обеих кривых, поэтому не имеет практического значения.

Рис. 2. Электрохимический контроль кислотно-основного титрования растворов щавелевой кислоты.

Контроль потенциометрический – 1, кондуктометрический – 2.

* - для водно-спиртовых растворов. Здесь и далее численные значения проводимости растворов заменены на удобные для представления на одном графике с данными потенциометрического титрования.



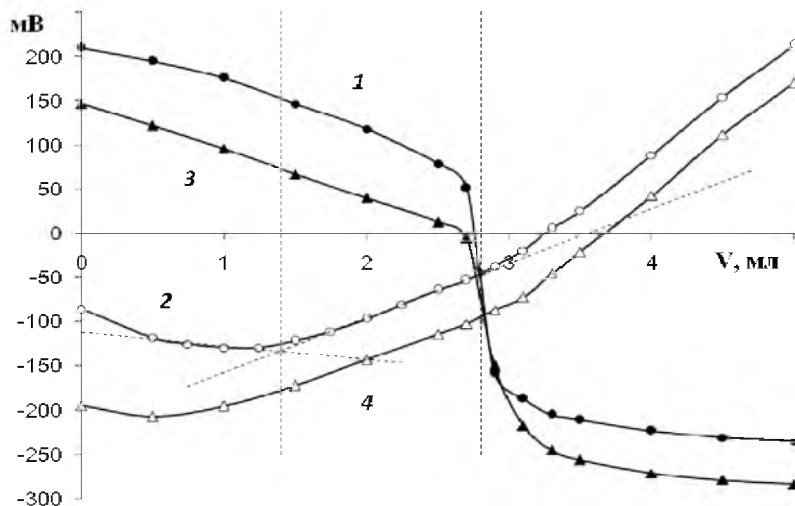
Первая точка эквивалентности находится классическим методом – по точке пересечения прямых линий, построение которых не вызывает каких бы то ни было затруднений – отбрасываются только несколько точек «переходного» диапазона (рис. 3).

Таким образом, при титровании кислот в чисто водном растворе кондуктометрическое детектирование позволяет определить первую точку эквивалентности: стандартный метод пересечения двух прямых линий, построенных по точкам до и после этой точки, представлен на рис. 3.

Кондуктометрический контроль при титровании в водно-спиртовой среде из-за уменьшения константы диссоциации не позволяет обнаружить первую точку эквивалентности.

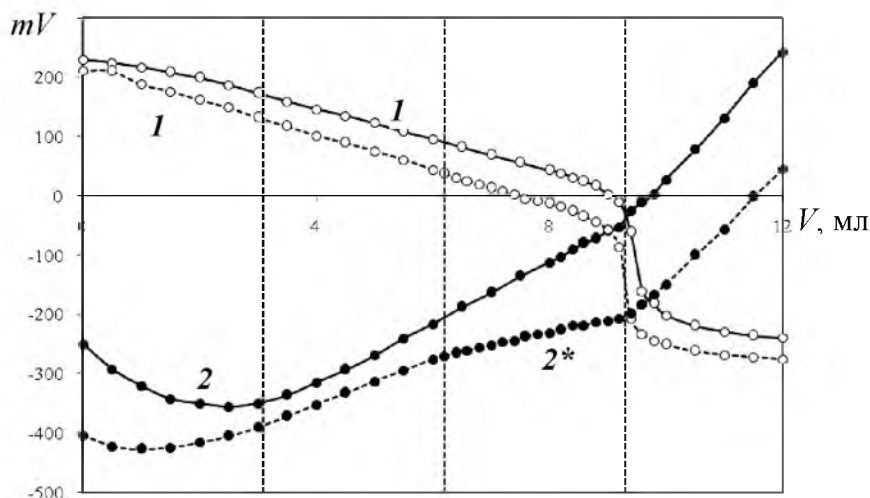
В случае яблочной кислоты первой должна титроваться карбоксильная группа с большей кислотностью, расположенная рядом с гидроксиметиленовой группой, т.е. сопоставимая по силе с карбоксильными группами винной кислоты. Тогда, на кривых титрования с кондуктометрическим детектированием первая точка эквивалентности также должна быть обнаруживаемой, что подтверждается экспериментально, рис. 5. Однако снижение кислотности при переходе к янтарной кислоте уже не позволяет обнаружить эту точку вследствие ее виртуальности (рис. 5).

Рис. 5. Электрохимический контроль кислотно-основного титрования растворов яблочной (1 и 2) и янтарной кислот (3, 4). Контроль потенциометрический – 1, 3 кондуктометрический – 2, 4.

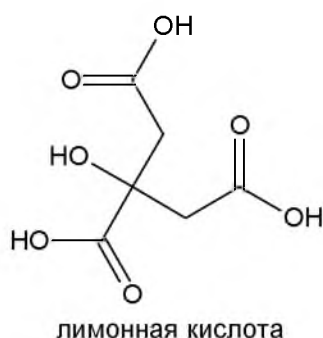


Кроме одноосновных и двухосновных кислот большое значение имеет и одна трехосновная – лимонная кислота (реже встречается ее изомер – изолимонная кислота). Три точки эквивалентности при титровании этой кислоты являются скорее умозрительными, поскольку взаимное влияние карбоксильных групп в данном случае невелико, и, действительно, на кривых потенциометрического титрования лимонной кислоты обнаруживается только точка эквивалентности, соответствующая полному замещению ионов водорода молекулы, т.е. – формально третьей точке эквивалентности, рис.6. Замена водного раствора на водно-спиртовой мало сказывается на характере кривой потенциометрического титрования.

Рис.6. Электрохимический контроль кислотно-основного титрования растворов лимонной кислоты. Контроль потенциометрический – 1, кондуктометрический – 2. * - для водно-спиртовых растворов.



Иная ситуация наблюдается при кондуктометрическом контроле: в водных растворах отчетливо проявляется минимум проводимости в диапазоне первой точки эквивалентности. В этом нет ничего удивительного, если учесть, что замещаться в первую очередь должна карбоксильная группа, активированная присутствием в α -положении гидроксильной группы, т.е. по свойствам приближающаяся к карбоксильным группам винной и яблочной (одной из двух) кислот.



Две другие эквивалентные карбоксильные группы будут вести себя как независимые, но кондуктометрический детектор может почувствовать изменение подвижности ионов при увеличении их заряда. Как видно из данных, приведенных на рис. 6, вторая точка эквивалентности весьма заметна при титровании лимонной кислоты в водно-этанольной смеси, однако при этом исчезает возможность надежного детектирования первой точки эквивалентности. Следовательно, несмотря на большую информативность контроля титрования в водно-этанольном растворе, детектирование в водном растворе предпочтительнее вследствие возможности определения (как и в случае двухосновных кислот) числа моль кислот независимо от их основности. При этом так же, как и при титровании двухосновных кислот, необходимо отказаться от использования точек в начальной части кондуктометрической кривой титрования, рис.7.

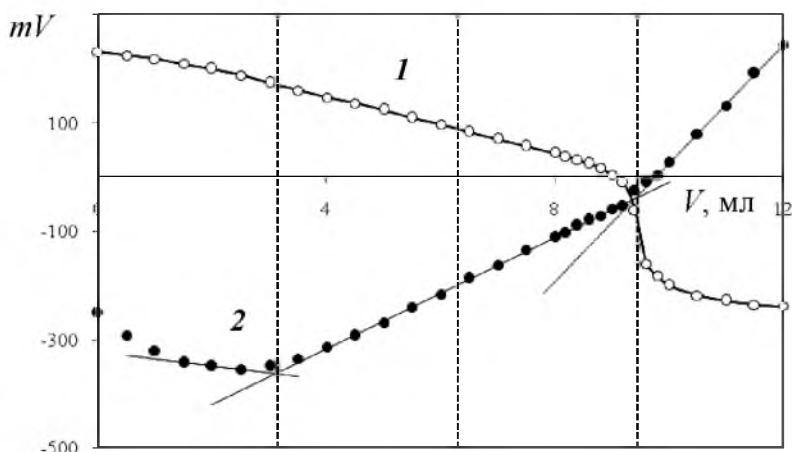


Рис.7. Электрохимический контроль кислотно-основного титрования водного раствора лимонной кислоты. Контроль потенциометрический – 1, кондуктометрический – 2.

Таким образом, одновременное использование двух электрохимических датчиков позволяет по кривой потенциометрического титрования определить суммарную (титруемую) кислотность, а по кондуктометрической кривой число моль суммы кислот.

Однако, реальные объекты должны представлять собой буферные смеси кислот и их солей. Замена кислот на их смеси с солями приведет к простому изменению кривых титрования – к перемещению стартовой точки титрования вправо по кривым титрования самих кислот; при большом содержании солей первая точка эквивалентности может оказаться слева за пределами графика.

Однако в этом случае существует легко реализуемая возможность увеличить объем информации, получаемой при титровании. Если для исходного образца обычным методом можно определить титруемую кислотность, то для аналогичного образца, пропущенного через катионообменную смолу, можно не только определить полное содержание кислот, а, следовательно, и вычислить содержание солей, но и определить тип кислот, преобладающих в образце. Для этого необходимо рассчитать соотношение, B , между объемом конечной точки эквивалентности, V_k , определенной потенциометрическим методом, и объемом первой точки эквивалентности, V_1 , определенной кондуктометрическим методом:

$$B = V_k / V_1.$$

Равенство двум этого соотношения (или близкие к двум значения) соответствуют присутствию двухосновных кислот в качестве основных кислот образца, в то время как для образцов с основной кислотой лимонной это соотношение увеличится до трех. Но то-

гда возможно и установление фальсификации соков, если кислотный состав образца мало изменяется в зависимости от сорта или степени созревания.

Так, малина относится к ценным плодам, популярным как в домашнем, так и в промышленном консервировании. Существование множества сортов малины подтверждается разнообразием антоцианового состава их плодов [13], определяемого активностью ряда ферментов [14]. Однако, по литературным данным вне зависимости от сорта основная кислота – лимонная – плодов (и сока) малины составляет $83 \div 87$ % от всех органических кислот [13].

Результаты титрования сока плодов малины до и после пропускания через катионообменную смолу, представлены на рис.8.

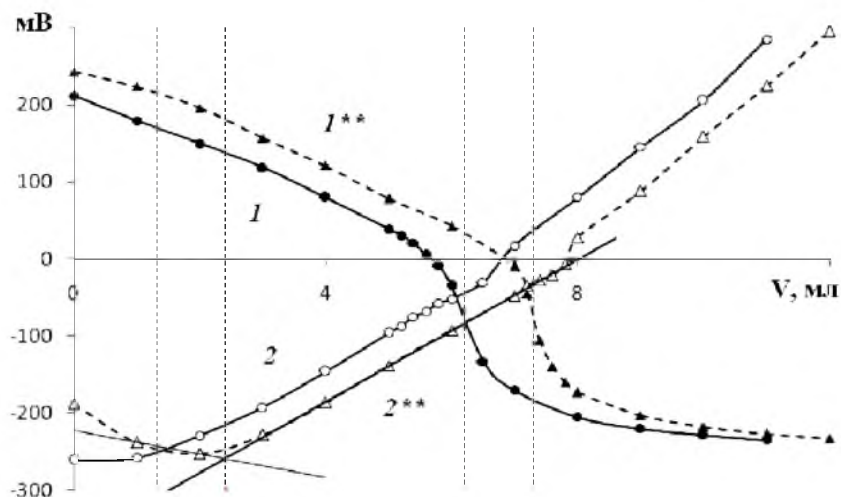


Рис.8. Электрохимический контроль кислотно-основного титрования сока плодов малины

Контроль потенциометрический - **1**, кондуктометрический - **2**.

** - после пропускания через колонку с катионообменной смолой в H^+ форме

На рисунке отчетливо видно, что после ионообменной смолы кислотность повысилась примерно на 18 %. Тогда соотношение кислота/соль в исходном соке составляет 56/10 в моль-экв. При этом соотношение B составляет:

$$B = 7.3 / 2.3 = 3.03.$$

Полученное соотношение подтверждает то, что основная кислота сока плодов малины – трехосновная. Наши исследования показали, что в случае, например, яблочного сока, это соотношение составляет примерно 2, указывая на то, что основная кислота сока – двухосновная. Поэтому, например, попытка фальсифицировать яблочный сок лимонной кислотой будет легко установлена без использования хроматографических методов с использованием значительно более доступных потенциометрического и кондуктометрического датчиков.

Заключение

Кислотно-основное титрование с двумя электрохимическими датчиками (потенциометрическим и кондуктометрическим) позволяет определять не только титруемую кислотность, но и общий состав буферной системы: по содержанию кислот и солей, а также их усредненный тип – по основности, что может быть использовано для определения качества и обнаружения фальсификации.

Список литературы

1. ГОСТ 3624-92. Молоко и молочные продукты. Титриметрические методы определения кислотности.
2. ГОСТ Р 51455-99. Йогурты. Потенциометрический метод титруемой кислотности.
3. ГОСТ Р 51434-99. Соки фруктовые и овощные. Метод определения титруемой кислотности.
4. ГОСТ 5898-87. Изделия кондитерские. Методы определения кислотности и щелочности.
5. Bartolome A., Ruperez P., Fuster C. Non-Volatile Organic Acids, Acidity Changes in Pineapple Fruit Slices pH and Titratable During Frozen Storage // J. Sci. Food Agric. – 1996. – Vol. 70. – P. 475-480.



6. Лурье Ю.Ю. Справочник по аналитической химии. – М.: Химия, 1979. – 480 с.
7. Cunha S.C., Fernandes J.O., Ferreira I.M.P.L.V.O. HPLC/UV determination of organic acids in fruit juices and nectars // *Eur. Food Res. Technol.* – 2002. – Vol. 214. – P. 67-71.
8. Mattila P., Hellström J., Torronen R. Phenolic acids in berries, fruits, and beverages // *J. Agric. Food Chem.* – 2006. – Vol. 54. – P. 7193-7199.
9. Zadernowski R., Naczek M., Nesterowicz J. Phenolic acid profiles in some small berries // *J. Agric. Food Chem.* – 2005. – Vol. 53. – P. 2118-2124.
10. Shiraishi S. A new electrochemical method for measurement organic acid content in tropical fruits based on conductivity // *Acta Hort. (ISHS)*. – 1992. – Vol. 321. – P. 203-210
11. 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.
12. Отто М. Современные методы аналитической химии (в 2-х томах). Том.1. – М.: Техносфера, 2003. – 403 с.
13. Begoña de Ancos, Gonzalez E., Cano M.P. Differentiation of raspberry varieties according to anthocyanin composition // *Z. Lebensmitt. Forsch. A.* – 1999. – Vol. 208. – P. 33-38.
14. Сорокопудов В.Н., Дейнека В.И., Лукина И.П., Дейнека Л.А. Антоцианы плодов некоторых видов рода *Rubus L.* из коллекции ботанического сада БелГУ. // *Химия растительного сырья.* – 2005. – № 4. – С. 61-65.

DETERMINATION OF PLANT FRUIT JUICE ACIDITY BY MEANS OF TWO ELECTROCHEMICAL METHODS

**L.A. Deineka,
I.P. Anisimovitch,
T.G. Novogenova,
V.I. Deineka**

*Belgorod State University
Pobedy Str., 85, Belgorod,
308015, Russia*

e-mail: deineka@bsu.edu.ru

Method of juice acid content investigation by means of acid-base titration with two electrochemical potentiometric and conductometric electrodes is offered. Tested on examples of individual two and tribasic acids in water solution and in water-alcohol mixtures the particularities of the titration curves are discussed. The conductometric titration curve has been shown to be used for determination of the first equivalence-point, while potentiometric curve may be explored for total acidity calculation. The acid mixture basicity thus may be determined after salt-acid transformation by ion-exchange resin.

Key words: conductometric titration, potentiometric titration, organic acids, fruit juices.